

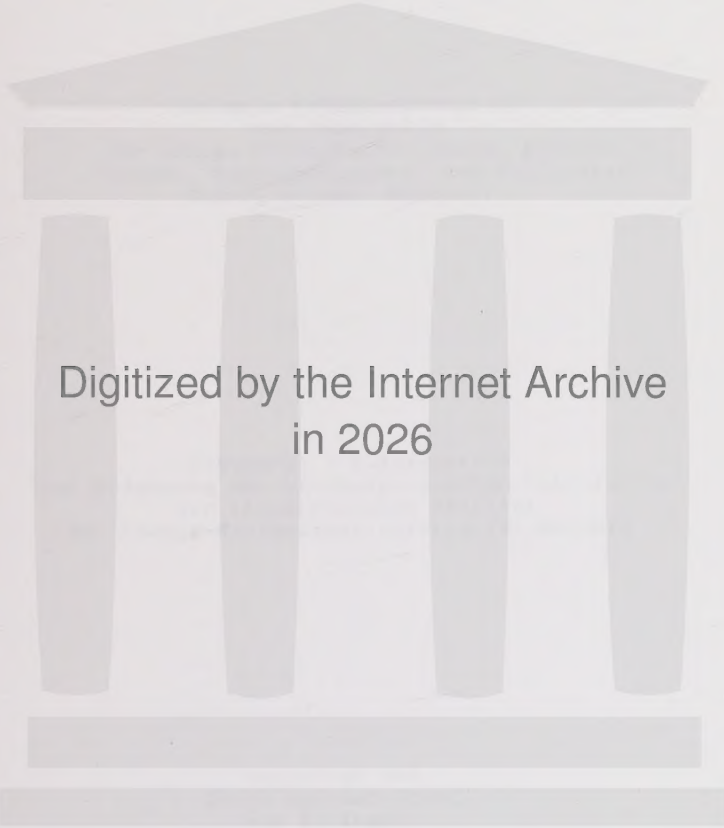
MINIMALE HEMMKONZENTRATION VON DOXYCYCLIN
FÜR EINIGE ENTEROBACTERIACEAE -, BORDETELLA AVIUM -,
PASTEURELLACEAE - UND MOLLICUTES - STÄMME
AVIÄRER HERKUNFT

DORIS QUINTEN - GRAEF

Disbui. München

1987





Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554619_0096

Aus dem Institut für Geflügelkrankheiten
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Vorstand: Prof.Dr.J.Kösters

Minimale Hemmkonzentration
von Doxycyclin
für einige Enterobacteriaceae-, Bordetella
avium-, Pasteurellaceae- und Mollicutes-
Stämme aviärer Herkunft

Inaugural - Dissertation
Zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von
Doris Quinten-Graef
aus Illingen

München 1987

Gedruckt mit der Genehmigung der Tierärztlichen
Fakultät der Universität München

Dekan: Prof.Dr.H.Zucker
Referent: Prof.Dr.J.Kösters
Korreferent: Prof.Dr.B.Gedek

Tag der Promotion: 24.Juli 1987

Klassiker der Literatur

1.1	Die Kunst der Kunst	1
1.2	Die Kunst der Kunst	2
1.3	Die Kunst der Kunst	3
1.4	Die Kunst der Kunst	4
1.5	Die Kunst der Kunst	5
1.6	Die Kunst der Kunst	6
1.7	Die Kunst der Kunst	7
1.8	Die Kunst der Kunst	8
1.9	Die Kunst der Kunst	9
1.10	Die Kunst der Kunst	10
1.11	Die Kunst der Kunst	11
1.12	Die Kunst der Kunst	12
1.13	Die Kunst der Kunst	13
1.14	Die Kunst der Kunst	14
1.15	Die Kunst der Kunst	15
1.16	Die Kunst der Kunst	16
1.17	Die Kunst der Kunst	17
1.18	Die Kunst der Kunst	18
1.19	Die Kunst der Kunst	19
1.20	Die Kunst der Kunst	20
1.21	Die Kunst der Kunst	21
1.22	Die Kunst der Kunst	22
1.23	Die Kunst der Kunst	23
1.24	Die Kunst der Kunst	24
1.25	Die Kunst der Kunst	25
1.26	Die Kunst der Kunst	26
1.27	Die Kunst der Kunst	27
1.28	Die Kunst der Kunst	28
1.29	Die Kunst der Kunst	29
1.30	Die Kunst der Kunst	30
1.31	Die Kunst der Kunst	31
1.32	Die Kunst der Kunst	32
1.33	Die Kunst der Kunst	33
1.34	Die Kunst der Kunst	34
1.35	Die Kunst der Kunst	35
1.36	Die Kunst der Kunst	36
1.37	Die Kunst der Kunst	37
1.38	Die Kunst der Kunst	38
1.39	Die Kunst der Kunst	39
1.40	Die Kunst der Kunst	40
1.41	Die Kunst der Kunst	41
1.42	Die Kunst der Kunst	42
1.43	Die Kunst der Kunst	43
1.44	Die Kunst der Kunst	44
1.45	Die Kunst der Kunst	45
1.46	Die Kunst der Kunst	46
1.47	Die Kunst der Kunst	47
1.48	Die Kunst der Kunst	48
1.49	Die Kunst der Kunst	49
1.50	Die Kunst der Kunst	50
1.51	Die Kunst der Kunst	51
1.52	Die Kunst der Kunst	52
1.53	Die Kunst der Kunst	53
1.54	Die Kunst der Kunst	54
1.55	Die Kunst der Kunst	55
1.56	Die Kunst der Kunst	56
1.57	Die Kunst der Kunst	57
1.58	Die Kunst der Kunst	58
1.59	Die Kunst der Kunst	59
1.60	Die Kunst der Kunst	60
1.61	Die Kunst der Kunst	61
1.62	Die Kunst der Kunst	62
1.63	Die Kunst der Kunst	63
1.64	Die Kunst der Kunst	64
1.65	Die Kunst der Kunst	65
1.66	Die Kunst der Kunst	66
1.67	Die Kunst der Kunst	67
1.68	Die Kunst der Kunst	68
1.69	Die Kunst der Kunst	69
1.70	Die Kunst der Kunst	70
1.71	Die Kunst der Kunst	71
1.72	Die Kunst der Kunst	72
1.73	Die Kunst der Kunst	73
1.74	Die Kunst der Kunst	74
1.75	Die Kunst der Kunst	75
1.76	Die Kunst der Kunst	76
1.77	Die Kunst der Kunst	77
1.78	Die Kunst der Kunst	78
1.79	Die Kunst der Kunst	79
1.80	Die Kunst der Kunst	80
1.81	Die Kunst der Kunst	81
1.82	Die Kunst der Kunst	82
1.83	Die Kunst der Kunst	83
1.84	Die Kunst der Kunst	84
1.85	Die Kunst der Kunst	85
1.86	Die Kunst der Kunst	86
1.87	Die Kunst der Kunst	87
1.88	Die Kunst der Kunst	88
1.89	Die Kunst der Kunst	89
1.90	Die Kunst der Kunst	90
1.91	Die Kunst der Kunst	91
1.92	Die Kunst der Kunst	92
1.93	Die Kunst der Kunst	93
1.94	Die Kunst der Kunst	94
1.95	Die Kunst der Kunst	95
1.96	Die Kunst der Kunst	96
1.97	Die Kunst der Kunst	97
1.98	Die Kunst der Kunst	98
1.99	Die Kunst der Kunst	99
1.100	Die Kunst der Kunst	100

Meinen Eltern

Inhaltsangabe

Seite

1.0	Einleitung	1
2.0	Literatur	2
2.1	Doxycyclin	2
2.1.1.	Entdeckung	2
2.1.2.	Chemie	2
2.1.3	Wirkungsmechanismus	3
2.1.4.	Wirkungsspektrum	4
2.1.5.	Verträglichkeit	5
2.1.6.	Applikation	6
2.1.7.	Dosierung	6
2.1.8.	Resistenzmechanismus	7
2.2.	Mikroorganismen	10
2.2.1.	Enterobacteriaceae	10
2.2.1.1.	Escherichia coli	11
2.2.1.2.	Salmonella	12
2.2.1.3.	Citrobacter	13
2.2.1.4.	Klebsiella	13
2.2.2.	Bordetella	14
2.2.3.	Pasteurellaceae	16
2.2.3.1.	Pasteurella	17
2.2.3.2.	Actinobacillus-like	18
2.2.4.	Mollicutes	19
2.3.	Minimale Hemmkonzentration (MHK)	22
2.3.1.	Definition	22
2.3.2.	Technik	22
2.3.2.1.	Einsaatmenge	22
2.3.2.2.	pH-Wert des Mediums	23
2.3.2.3.	Stabilität des Wirkstoffs	23
2.3.2.4.	Entwicklungsphase der Keime	23
2.3.3.	Auswertung	23
3.0.	Eigene Untersuchungen	25
3.1.	Versuchsplan	25
3.2.	Material und Methode	25
3.2.1.	Erstisolierung	25
3.2.2.	Biochemische Untersuchungen	29
3.2.2.1.	Bakterienstämme	29
3.2.2.2.	Mollicutes-Stämme	30
3.2.3.	Stammhaltung	31
3.2.4.	Bestimmung der Minimumhemmkonzentration	31
3.2.4.1.	Medien	32
3.2.4.2.	Inoculum	32
3.2.4.3.	Ablesemodus	32
3.2.5.	Messung des Aktivitätsabfalls von Doxycyclin	33
4.0	Ergebnisse	35
4.1.	Differenzierung der untersuchten Mikroorganismen	35
4.2.	MHK - Bestimmung	37
4.3.	Tabellen	38
4.3.	Aktivitätsabfall von Doxycyclin	52
5.0.	Diskussion	54
6.0.	Zusammenfassung	58
7.0.	Literaturverzeichnis	64

Einleitung

In der Bundesrepublik Deutschland wird Doxycyclin seit zwei Jahrzehnten in Human- und Veterinärmedizin gegen bakterielle Infektionen angewandt (Pulverer, 1969). Eine Spezialindikation sind durch Chlamydien hervorgerufene Erkrankungen (Forth et al., 1983).

Aufgrund seiner guten Verträglichkeit hat dieses neuere Tetracyclinderivat als Therapeutikum in der Vogelpraxis zunehmend Bedeutung gewonnen (Gerlach, 1986; Lüthgen, 1983).

Ist Resistenzbildung von Chlamydien gegen Tetracycline in vitro und vivo selten (Henning und Kraus, 1986), so wird die Resistenzsteigerung von Bakterien gegen diese Antibiotikagruppe auch in der Vogelpraxis immer häufiger zum Problem (Hinz & Sperhake, 1974). Lüthgen (1983) führt dies nicht zuletzt auf den unkontrollierten Einsatz von Tetracyclinen über den grauen Arzneimittelmarkt zurück, zumal alle Mitglieder der Tetracyclingruppe untereinander weitgehend kreuzresistent sind.

Es wurde mir die Aufgabe gestellt, die Resistenzlage aviärer Stämme von Bakterien und Mollicutes gegen Doxycyclin über die Bestimmung der Minimumhemmkonzentration (MHK) zu prüfen.

2.0. Literatur

2.1. Doxycyclin

2.1.1. Entdeckung

Doxycyclin wurde in den Pfizer-Laboratorien Brooklyn/ N.Y. aus Oxytetracyclin entwickelt (Walter & Heilmeyer, 1975) und 1962 von Schach von Wittenau et al. erstmals beschrieben. Es gehört zur Gruppe der Tetracycline, deren erster Vertreter 1945 aus *Streptomyces aureofaciens* isoliert und nach Entdeckung weiterer Tetracycline Chlortetracyclin genannt wurde (Forth et al., 1983). Gemeinsam mit Minocyclin steht Doxycyclin als "neueres" Tetracyclinderivat am vorläufigen Ende einer Entwicklungsreihe (siehe Tab.1).

Tab.1: Übersicht über die Tetracycline (Lüthgen, 1983)

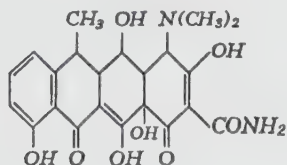
Tetracycline	Abkürzung	Entdeckungsjahr
Chlortetracyclin	CTC	1945/48
Oxytetracyclin	OTC	1949/50
Tetracyclin	TC	1952/53
Demethylchlortetracyclin	DMCT	1957/59
Rolitetracyclin	RTC	1958
Metacyclin	META	1961
Doxycyclin	DOXY	1962
Minocyclin	MINO	1966

2.1.2. Chemie

Die Gewinnung von Doxy erfolgt auf halbsynthetischem Wege durch Hydrolysierung aus META. Als chemisches Grundgerüst ist allen Tetracyclinen ein polycyclischer Kohlenwasserstoff, hergeleitet aus Tetracen, eigen. Die einzelnen Derivate unterscheiden sich in der Ringsubstitution.

Doxy, chemisch α -6-Desoxy-5-hydroxytetracyclin-hydrochlorid, hat folgende Strukturformel:

Abl.1: Strukturformel von Doxycyclin



die Summenformel: $C_{22}H_{24}O_6N_2$ und ein Molekulargewicht von 513 (Forth et al., 1983), (Walter & Heilmeyer, 1975; Pfizer Firmeninformation).

Doxy ist wie alle Tetracycline, mit Ausnahme von RTC, schlecht wasserlöslich. Die gelben Kristalle besitzen jedoch amphotere Eigenschaften und bilden sowohl mit Säuren als auch mit Basen wasserlösliche Salze. Therapeutisch werden bevorzugt die Hydrochloride verwendet. Sie sind ausreichend in Wasser, jedoch in Alkohol und anderen organischen Lösungsmitteln wenig löslich. In kristalliner Form ist Doxy stabil, als wässrige Lösung in Abhängigkeit von pH-Wert, Licht und Temperatur instabil.

Doxy geht im alkalischen Bereich mit bestimmten Kationen (Ca, Mg, Fe, Al, Cu, Ni, Mn) Chelatbindungen ein. Als Maß für die Chelat- bzw. Komplexbildungsaktivität gilt die Bindung an Ca^{++} -Ionen. Während 24 Stunden werden von 10 g Ca-Phosphat in wässriger Lösung 19-22 % Doxy gebunden. Die Chelate sind antimikrobiell unwirksam (Walter & Heilmeyer, 1975; Forth et al., 1983). Von Walter & Heilmeyer wird die Serumweißbindung trotz sich widersprechender Literaturangaben mit 31 % als real angenommen.

2.1.3. Wirkungsmechanismus

Doxy wirkt in den therapeutisch erreichbaren Konzentrationen bakteriostatisch. Es hemmt wie die übrigen Tetracycline die Proteinsynthese am Ribosom durch Blockierung des Einbaus aktivierter Aminosäuren (Walter & Heilmeyer, 1975). Franklin & Snow (1973) berichten von Untersuchungen über die Wirkung der Tetracycline auf Wechselbeziehungen zwischen transfer-Ribonucleinsäure (t-RNS) und Ribosom. Es zeigte sich, daß diese Antibiotika die Bindung der Aminoacyl-t-RNS an die Akzeptorstelle des Ribosoms



hemmen, die Bindung an der Donorstelle aber unbeeinflusst bleibt. Tetracycline verhindern somit die Peptidkettenverlängerung. Voraussetzung ist jedoch das Eindringungsvermögen in die Bakterienzelle. Tetracyclinsensitive Bakterien können nach Franklin & Snow (1973) das Antibiotikum in einem Adenosintriphosphat-(ATP-) abhängigen Prozeß akkumulieren. Der Transport über die Zellmembran bewirkt eine intrazelluläre Konzentration des Antibiotikums und damit die vollständige Hemmung der Proteinsynthese in empfindlichen Zellen.

Tetracycline wirken auf extra- und intrazellulär gelagerte Keime in der Wachstums- und Vermehrungsphase. Keime in der Ruhephase werden durch diese Antibiotika in der Regel nicht beeinflusst (Walter & Heilmeyer, 1975)

2.1.4. Wirkungsspektrum

Tetracycline werden den sogenannten Breispektrum-Antibiotika zugerechnet. Das Wirkungsspektrum ist weit gefächert und umfaßt viele Genera (siehe Tab.2)

Tab.2: Wirkungsspektrum der Tetracycline (nach Forth et al., 1983; Pfizer Firmeninformation)

<u>grampositive Erreger</u>	<u>gramnegative Erreger</u>
Micrococcus	Escherichia
Staphylococcus	Shigella
Bacillus	Salmonella
Clostridium	Citrobacter
Listeria	Klebsiella
Erysipelothrix	Enterobacter
Corynebacterium	Serratia
Mycobacterium	Hafnia
Actinomyces	Edwardsiella
Nocardia	
	Pasteurella
	Actinobacillus
	Haemophilus
Spirochaetaceae	
Chlamydia	Legionella
Rickettsia	Neisseria
Mollicutes	
	Brucella
	Campylobacter
	Bacterioides
	Fusobacterium

Die antimikrobielle Wirkung ist jedoch nicht bei allen Erregern ausreichend stark und wird zum Teil (z.B. bei Mycobacterium) von anderen Chemotherapeutika übertroffen.

Von quantitativ und qualitativ unterschiedlicher Wirksamkeit zwischen den klassischen und den neueren Tetracyclinen berichtet Aronson (1980). Demnach hat Doxy eine höhere Aktivität gegen Anaerobier. Eine ausreichend gute Wirksamkeit gegen aviäre Campylobacter jejuni wird von Riedel (1987) bestätigt. Bei der Behandlung von Chlamydia psittaci hat sich Doxy in den letzten Jahren bewährt (Jakoby, 1979; Luthgen, 1979; Gylstorff, 1984).

Pseudomonas aeruginosa, Proteus, Virus, Pilze und Protozoen gehören nicht zum Wirkungsspektrum von Doxy oder anderen Tetracyclinen (Forth et al., 1983).

2.1.5 Verträglichkeit

Die Wirkung von Doxy ist nicht auf die 70-S-Ribosomen der Mikroorganismen beschränkt. Die bakteriellen Ribosomen besitzen jedoch eine bedeutend höher Affinität für dieses Antibiotikum als die 80-S-Ribosomen der Säugetierzellen. Forth et al. (1983) erklären damit die geringe Toxizität beim Menschen.

Die Artenvielfalt in der Vogelpraxis läßt kein pauschales Urteil über die Verträglichkeit eines Medikamentes bei der Klasse der Aves zu. Nach Teichmann & Gerlach (1976) traten bei oraler Applikation von 100 mg OTC/kg KGW bei Agaporniden und Aras toxische Erscheinungen wie Regurgitieren, Salivation, Tränenfluß, Polyurie und Polydipsie auf. Im Gegensatz dazu zeichnete sich Doxy bei allen behandelten Psittaciformes durch gute Verträglichkeit aus (Luthgen, 1983). Erfahrungen von Paulmann (1986) zufolge ist Doxy für Smaragdsittiche (Enicognathus ferrugineus) in der üblichen Dosierung (100 mg/kg KGW) tödlich.

Gerlach (1986) berichtet von ausgedehnten nekrotischen Gewebeschäden an den Injektionsstellen bei verschiedenen Psittaciden nach intramuskulärer Injektion eines in den USA hergestellten Doxycyclinpräparates. Es handelte sich dabei um eine wässrige Hydrochloridlösung. In Westdeutschland hergestelltes Doxy auf Polyvinylpyrrolidonbasis konnte dagegen ohne wesentliche Schäden intramuskulär appliziert werden (Gylstorff, 1986).

Im Vergleich zu den "älteren" Tetracyclinen wird Doxy zum größten Teil durch Metabolisierung eliminiert und nicht durch renale Ausscheidung (Dettli, 1967; Fabre et al., 1967). Die Kumulationsgefahr bei vorliegender Niereninsuffizienz ist dadurch geringer. Daher eignet

sich Doxy nach Meinung von Lühgen (1983) besonders für die Vogelpraxis.

2.1.6. Applikation

Durch seine gute enterale Resorbierbarkeit (>90%) wird in der Humanmedizin die orale Gabe von Doxy bevorzugt (Forth et al., 1983). Nach Teichmann & Gerlach (1976) ist bei vielen Vogelarten besonders aber bei Psittaciformes der parenteralen Injektionstherapie der Vorzug zu geben. Die Wirkung des Medikamentes tritt schneller ein, ein höherer Blutspiegel wird erreicht.

Bei oraler Applikation über das Futter ist durch unregelmäßige über den Tag verteilte Futteraufnahme sowie durch artspezifische und individuelle Resorptionsunterschiede mit starken Schwankungen des Blutspiegels zu rechnen.

Eine Applikation über das Trinkwasser wird in der Literatur abgelehnt, da die meisten kranken Vögel und einige Vogelgruppen auch physiologisch zuwenig und zu unregelmäßig trinken, um einen therapeutisch wirksamen Blutspiegel aufrechtzuerhalten. Geschmacksveränderungen des Trinkwassers oder auch des Futters führen oft zu vollständiger Verweigerung der Wasser-und/oder Futteraufnahme (Wachendörfer, 1969; Wachendörfer, 1975; Gylstorff, 1986).

2.1.7. Dosierung

Die Hemmung der Proteinsynthese durch Doxy ist reversibel. Aus diesem Grund muß ein therapeutisch wirksamer Gewebespiegel am Wirkort über eine längere Zeit bestehen bleiben (Lühgen, 1983). Die Human- und Veterinärmedizin fordert für Tetracycline einen Blutspiegel von 1 µg/ml Serum (Walter & Heilmeyer, 1975). Nach den später zitierten Resistenzen ist 1 µg/ml Blutspiegelkonzentration auch in der Vogelpraxis notwendig.

Aufgrund der im Vergleich zu den meisten Säugetieren höheren Stoffwechselaktivität werden pharmakologisch wirksame Substanzen von Angehörigen der Klasse Aves relativ schnell metabolisiert und eliminiert. Bei gleicher Dosierung von Tetracyclinen sind die Blutspiegel bei Vögeln in der Regel um eine Zehnerpotenz niedriger als bei Säugetieren (zitiert bei Hein, 1974). Um die geforderte Blutkonzentration über eine längere Zeit zu erhalten, muß daher eine höhere Dosierung als beim Säuger gewählt und in kürzeren Zeitabständen appliziert

werden. Dabei ist zu beachten, daß die Halbwertszeit von Doxy bei kleineren Vögeln kürzer als bei größeren ist (Dorrestein et al., 1981).

Jakoby (1979) empfiehlt bei Psittaciformes die intramuskuläre Injektion von 100 mg/kg KGW in einem 7-tägigen, später 5-tägigen Abstand. Dadurch wird eine Blutkonzentration des Wirkstoffs in therapeutischer Höhe erreicht und genügend lange aufrechterhalten (Gylstorff et al., 1984).

2.1.8. Resistenzmechanismus

Resistente Bakterienzellen verfügen über eine Reihe von Mechanismen, um sich gegen die wachstumshemmende Wirkung eines Antibiotikums zu wehren. Ein Beispiel dafür ist die Inaktivierung von Penicillin durch die von Bakterien erzeugte Penicillinase (β -Lactamase). Das Enzym öffnet den β -Lactamring des Penicillins wodurch die antimikrobiell unwirksame Penicilloinsäure entsteht. Bei gramnegativen Bakterienarten wird der β -Lactamase-Marker von R-Faktoren determiniert. Auch Chloramphenicol und Aminoglycosid-Antibiotika können enzymatisch von resistenten Bakterienstämmen inaktiviert werden (Franklin & Snow, 1973). Es gibt jedoch keine Hinweise darauf, daß Doxy von einer resistenten Bakterienzelle chemisch verändert wird. Franklin & Snow (1973) folgern daraus, daß eine durch das Tetracyclin selbst induzierte Veränderung des Transportmechanismus stattfindet. Nach Levy (1974) wird bei der Tetracyclinresistenz durch R-Faktoren die Produktion eines Proteins hervorgerufen, das nach Einlagerung in die Zellmembran die Penetration des Wirkstoffs in die Zelle verhindert.

Zwischen den einzelnen Tetracyclinen besteht eine fast vollständige Kreuzresistenz. Die Resistenzentwicklung tetracyclinempfindlicher Keime erfolgt langsam nach dem multiple-step-Schema (Walter & Heilmeyer, 1975).

Die Resistenz gegen Antibiotika und Chemotherapeutika kann von Bakterien auf verschiedene Weise erworben werden:

Eine Möglichkeit ist die spontane Chromosomenmutation. Diese führt zu einer Veränderung von Zellstrukturen. Dadurch wird die Aufnahme des Antibiotikums in die Zelle oder die Bindung desselben am Wirkungsort verhindert (Funatsu und Wittmann, 1972). Eine solche Mutation tritt jedoch selten auf. Nach Zähler (1965) findet sich unter etwa 10^7 bis 10^{11} Colibakterien eine Zelle, die Resistenz gegen ein Antibiotikum zeigt. Lebek (1969) schätzt die

Wahrscheinlichkeit für das gleichzeitige Zusammentreffen einer Resistenz gegen zwei Antibiotika bei gleicher Mutationsrate auf 10^{-18} bis 10^{-22} . Die Entstehung von Mehrfachresistenzen durch Mutation ist daher unwahrscheinlich.

Häufig kommt es durch die Mutation des Bakterienchromosoms zu einer Verlängerung der Generationszeit der Zelle. Diese "Minusvarianten" werden durch nicht mutierte Zellen schnell unterdrückt. Die Chromosomenmutation spielt daher bei der Ausbildung resistenter Bakterienpopulationen nur eine untergeordnete Rolle.

Eine zweite Möglichkeit ist die Verbreitung der Antibiotikaresistenz durch Übertragung genetischer Information. Dies kann mittels Transformation, Transduktion oder Konjugation geschehen (Gedek, 1983; Franklin & Snow, 1973).

Bei der Transformation wird Desoxyribonucleinsäure (DNS) aus einem zellfreien Extrakt des Donators auf einen anderen Bakterienstamm übertragen und von diesem durch Rekombination erblich verankert. Da die DNS nur in Fragmenten von der Akzeptorstelle aufgenommen werden kann, wird meist nur eine Eigenschaft weitergegeben. Nach Franklin & Snow handelt es sich hierbei um eine relativ unbrauchbare Methode, um genetische Information zu übertragen, da für jede Übertragung eines Resistenzmarkers eine resistente Zelle lysieren muß, um ihre DNS freizusetzen.

Bei der Transduktion wird genetische Information von einer Donor- auf eine Akzeptorstelle durch temperierte Phagen übertragen (Gedek, 1983). Die Verbreitung von Resistenzmarkern durch Transduktion spielt vor allem bei *Staphylococcus aureus* eine große Rolle (Franklin & Snow, 1973).

Bei der Konjugation wird genetisches Material über Plasmabrücken von einer Zelle in eine andere transferiert. Voraussetzung ist das Vorhandensein eines Fertilitätsfaktors (F-Faktor) in der Donorzelle, der extrachromosomal oder im Bakteriengenom integriert sein kann. Er codiert einen speziellen Pilus, über den das Genmaterial nach Kontakt mit einer Rezeptorzelle in diese eingeschleust wird. Durch Konjugation kann im Gegensatz zu Transformation und Transduktion mehr genetische Information, d.h. mehr als ein Resistenzgen weitergegeben werden (Gedek, 1983).

Als eine besondere Form der Resistenzübertragung durch Konjugation spielt die, besonders in der Familie der Enterobacteriaceae, aber auch bei *Pasteurella*, *Pseudomonas*, *Aeromonas* und *Campylobacter* auftretende sogenannte übertragbare Resistenz epidemiologisch eine große Rolle. Sie wird ausgelöst durch ein extrachromosomales, aus DNS bestehendes Plasmid (R-Faktor). Das Plasmid besteht aus zwei Funktionseinheiten, einmal

einer Übertragungseinheit (RTF, resistance transfer factor) sowie aus Resistenzdeterminanten, auf denen die Resistenz gegen bestimmte Antibiotika und Chemotherapeutika festgelegt ist.

Die extrachromosomalen R-Faktoren vermehren sich in der Bakterienzelle unabhängig von der Zellteilung und können daher auch eine schnellere oder langsamere Teilungsrate als die Wirtszelle aufweisen. Das Genom R-Faktor-tragender Bakterienzellen und damit auch die Generationszeit bleibt unverändert, so daß solche Zellen im Gegensatz zu chromosomenmutierten Bakterien keine Minusvarianten darstellen und von nicht resistenten Stämmen daher auch nicht schnell wieder unterdrückt werden können.

Über die röhrenähnlichen Sex-Pili wird der R-Faktor an andere Bakterien weitergegeben. Auf diese Weise können Bakterien auch ohne Antibiotikakontakt allein durch das Zusammentreffen mit resistenten Stämmen deren Unempfindlichkeit gegen Antibiotika übernehmen sowie die Fähigkeit erhalten, diese erneut weiterzugeben. Mit der Entdeckung der übertragbaren Resistenz läßt sich das Phänomen der gleichzeitigen Unempfindlichkeit gegen mehrere Antibiotika (Mehrfachresistenz) erklären.

R-Faktor-tragende apathogene *Escherichia coli*-Stämme der autochthonen Darmflora vieler Säuger stellen ein Reservoir für die Verbreitung von Resistenzeigenschaften auf Krankheitserreger dar (Gerlach, 1967; Lebek, 1969; Willinger & Georgopoulos, 1971; Gedeck, 1983).

R-Faktoren kommen bei *Escherichia coli* wesentlich häufiger vor als bei Salmonellen. Verantwortlich dafür sind bei Salmonellen gefundene chromosomal determinierte Nucleasen. Diese zerstören effektiv fremde DNS. *E. coli*-Stämme besitzen zwar ähnliche Mechanismen, deren Aktivität gegen R-Faktoren ist jedoch geringer (Lebek, 1976; Colson et al., 1969).

Die übertragbare Resistenz kann spontan verlorengehen. Ungünstige Bedingungen bei der Keimvermehrung in vitro sowie mehrfache Kulturpassagen fördern das Verschwinden des R-Faktors (Lebek, 1963). Nach Lebek (1969) sollten daher Verzögerungen bei bakteriologischen Untersuchungen sowie häufige Kulturpassagen vor einer Resistenztestung vermieden werden.

In einem infizierten Organismus können gleichzeitig neben Antibiotika-sensiblen Keimen resistente Stämme auftreten. Um sicherzugehen, daß resistente Keime bei der bakteriologischen Untersuchung miterfaßt werden, empfiehlt Goren (1979) eine Stammischung aus verschiedenen Organen und als Inoculum mehrere Kolonien zu verwenden.

2.2. Mikroorganismen

2.2.1. Enterobacteriaceae (Bergey's Manual, 1984)

Enterobacteriaceae sind gramnegative, mittelgroße, plumpe Stäbchen ohne Sporenbildung. Sie sind in Bezug auf Kulturbedingungen anspruchslos und wachsen auf vielen gebräuchlichen Nährböden aerob, aber auch fakultativ anaerob bei einem Temperaturoptimum von 30 - 37°C. Um unspezifische Begleitkeime, wie z.B. *Proteus* spp. zu unterdrücken, wird vor allem bei der Salmonellendiagnostik eine Anreicherungstemperatur von 43°C empfohlen (Harvey & Thompson, 1953). Einige aviäre *Salmonella* Spezies, wie z.B. *Salmonella gallinarum*-pullorum und *Salmonella typhimurium* var. copenhagen werden jedoch durch so hohe Temperaturen teilweise erheblich geschädigt, so daß eine Diagnosestellung erschwert oder unmöglich wird (Geissler & Kösters, 1970; Lüthgen & Lucas, 1971).

Die zur Differenzierung der Enterobacteriaceae üblicherweise bestimmten biochemischen Reaktionen sind in Tab.3 zusammengefaßt.

Tab.3: Biochemische Reaktionen der untersuchten Enterobacteriaceae (nach Bergey, 1984)

	E.coli	Salmonella	Citrobacter amalonat.	Citrobacter freundii	Klebsiella oxytoca	Klebsiella p. ozaenae	Klebsiella pneumoniae
Glucose	+	+	+	+	+	+	+
Gas a. Glucose	+	d	+	+	+	d	+
Lactose	+	d	d	d	+	d	+
Urease	-	-	+	+	+	-	+
Beweglichkeit	d	+	+	+	+	-	+
VP*	-	-	-	+	+	-	+
Indol	+	-	-	-	+	-	-
LDC*	+	+	-	-	+	-	-
Citrat	-	d	+	+	+	d	+
KCN	-	-	-	+	+	+	+
H ₂ S	-	+	-	-	-	-	-
Phenylalanin*	-	-	-	-	-	-	-

* VP = Voges Proskauer

LDC = Lysin decarboxylase

Phenylalanin = Phenylalanin desaminase

2.2.1.1. Escherichia (E.) coli [Castellani & Chalmers, 1919]

E.coli, erstmals isoliert von Escherich 1885, ist überwiegend peritrich begeißelt und damit beweglich. Es treten jedoch auch unbewegliche Stämme auf. Der Keim bildet auf den üblichen Nährböden 1-3 mm große runde, meist glattrandige, opalisierende und leicht gewölbte Kolonien. Kolonien in R-Form mit einem gezähnten Rand werden ebenfalls beobachtet. Sie sind kleiner und lassen sich nicht in Kochsalzlösung suspendieren. Einzelne Stämme zeigen mucoides Wachstum.

Abweichungen von den üblichen biochemischen Eigenschaften treten gelegentlich auf, so besonders fehlende Lactosespaltung und Fehlen einer Lysin-Decarboxylase (LDC). Die Vermutung vieler Autoren, daß ein Zusammenhang zwischen biochemischen Abweichungen und Pathogenität bestehe, konnte von Blauel (1973) für aviäre Isolate nur in Bezug auf fehlende LDC bestätigt werden. Solche Stämme erwiesen sich im Tierversuch als gehäuft pathogen für Hühnerküken.

E.coli ist ein ubiquitärer Keim und gehört beim Menschen und bei vielen warmblütigen Tieren zur autochthonen Darmflora. Der Anteil an der physiologischen Darmflora beträgt jedoch nur 1-5 %. Bei manchen Säugetieren wie z.B. bei Meerschweinchen oder Chinchilla treten E.coli-Stämme im Darm normalerweise nicht auf.

Auch im Darm vieler Vogelarten findet man E.coli nicht regelmäßig vor. Wendler (1984) vertritt in Übereinstimmung mit vielen Autoren die Ansicht, daß Enterobacteriaceae nicht zur autochthonen Darmflora körnerfressender Ziervögel zu zählen sind. Bei Haltungsbedingungen mit hohem Keimdruck, z.B. hohe Besatzdichte der Käfige, mangelnde Hygiene, häufige Fluktuation der Käfigbewohner sowie Streß durch Beunruhigung oder Krankheit ist jedoch mit einem gehäuftem Auftreten auch von E.coli im Darm zu rechnen. Nach Glünder (1981) gehört E.coli nicht zur physiologischen Darmflora von Psittaciden und Körnerfressern. Bei Eulenvögeln tritt E.coli physiologisch im Darm nicht auf (Gerlach, 1987; persönliche Mitteilung). Beim Haushuhn ist E.coli dagegen bereits sechs Stunden nach dem Schlupf im Verdauungstrakt nachweisbar (Mead & Adams, 1975).

Die Angaben über Resistenz gegen Tetracycline bei E.coli verschiedener Herkunft schwanken in der Literatur zwischen 16 % und 100 % (Bundesgesundheitsamt, 1986). Nach Pensseyres (1980) liegt die Resistenz im Durchschnitt bei 21%. Gerlach (1986) berichtet von 52% tetracyclinunempfindlicher Stämme aviärer Herkunft. Nach Naqi et al., (1982) werden 97 % E.-coli-Stämme durch Tetracyclin nicht

gehemmt. Die approximative Minimumhemmkonzentration von Doxy liegt für *E.coli* bei 4µg/ml (Nicolet,1985).

2.2.1.2. Salmonella (S.) [Lignières,1900]

Salmonella typhimurium var.copenhagen (Stc) gehört als bewegliches Stäbchenbakterium der Gattung *Salmonella* an. Es wächst auf einfachen Nährböden als runde glänzende Kolonien. Da es aus epidemiologischen und lebensmittelhygienischen Gründen oft notwendig erscheint auch geringe Keimzahlen zu erfassen, werden selektive Anreicherungsmedien neben der direkten Anzucht auf Agarplatten routinemäßig verwendet.

Durch ihre biochemischen Eigenschaften lassen sich die Keime dem Genus *Salmonella* zuordnen (siehe Tab.3). Die Speziesbestimmung erfolgt über die Antigenanalyse nach dem Kaufmann-White-Schema. *S.typhimurium* hat die Antigenformel 01,45,12;Hi;1,2,. Die Copenhagenvariante ist durch das Fehlen des 05-Antigens charakterisiert. 98.4% der *Salmonella*-Isolate aus Tauben gehören der Subspezies Stc an (Pietzsch,1980).

Die Copenhagenvariante wird überwiegend aus Tauben und aus freifliegenden einheimischen Singvögeln isoliert. Es handelt sich dabei um getrennte Populationen, die sich biochemisch unterscheiden (Wuthe,1978). D-tartratverwertende Stämme kommen fast ausnahmslos bei freifliegenden Singvögeln vor. Fehlende Maltosespaltung des Serovars Copenhagen ist ein entscheidendes Charakteristikum taubenspezifischer Stämme. Solche Stämme werden aus anderen Quellen nur selten isoliert. Wuthe & Wuthe (1980) schließen daraus, daß Haustauben für die Verbreitung der Salmonellose bei anderen Haustieren und beim Menschen eine untergeordnete Rolle spielen.

In den letzten Jahren sind in der Bundesrepublik Deutschland Resistenzsteigerungen gegen Tetracycline bei *Salmonella typhimurium* unterschiedlicher Herkunft beobachtet worden (Hofmann et al.,1967; Bulling et al.,1973). Nach einer Untersuchung von Settnes (1968) an aviären *S.typhimurium*-Stämmen stellte die Resistenz gegen Tetracycline bei dieser Bakterienart in den Jahren 1945-1958 kein Problem dar. Lediglich 0.8 % der Stämme wurden durch diese Antibiotika im Wachstum nicht gehemmt. Wuthe (1978) berichtet im Rahmen von Versuchen über die Häufigkeit von Resistenzdeterminanten bei *Salmonella*-Isolaten aus Tauben von 20.2 % tetracyclinresistenter Stämme. Nach Penseyres (1980) liegt die Umempfindlichkeit von Geflügel-Salmonellen gegenüber Tetracyclinderivaten bei 11%.

Salmonella-Isolate aus Klinik-und Sektionsmaterial des des Institutes für Geflügelkrankheiten in München waren

zu 27.5 % tetracyclinresistent (Gerlach, 1986).

2.2.1.3 Citrobacter (C.) [Werkman & Gillen, 1932]

Das Genus *Citrobacter* enthält drei Spezies beweglicher Stäbchenbakterien:

- *C. freundii*
- *C. diversus*
- *C. amalonaticus*

Citrobacter-Stämme gelten als fakultativ pathogen. Sie sind ubiquitär in Feuchtbiotopen, auf Pflanzen und als Bewohner des Magen-Darm-Traktes bei Mensch und Tier verbreitet.

Nach Anreicherung in Nahrungs- und Futtermitteln kommt es gelegentlich zu Diarrhoen mit milden Verlaufsformen (Gedek, 1983). Graham et al. (1981) berichten von Meningitiden bei menschlichen Neugeborenen, verursacht durch *C. diversus*. Bei verschiedenen Finkenarten kommt es gehäuft zu Durchfällen und Allgemeinerkrankungen (Gerlach, 1986).

Die Angaben über Resistenz von *Citrobacter* spp. gegenüber Tetracyclinen liegen zwischen 19 % und 64 %. Pensyeres (1980) berichtet von 13 % tetracyclinunempfindlicher *Citrobacter*-Stämme. Empfindlichkeitsprüfungen von Gerlach (1986) ergaben 46.7 % tetracyclinresistente aviäre *Citrobacter*-Isolate.

2.2.1.4. Klebsiella (K.) [Trevisan, 1885]

Klebsiellen sind unbeweglich und besitzen eine Kapsel, die nach Kulturpassagen auf künstlichen Nährböden schnell verloren gehen kann. Unter aeroben, aber auch anaeroben Bedingungen wachsen sie in glänzenden, schleimigen Kolonien, die denen von mucoiden *E. coli* ähnlich sehen können.

Durch biochemische Verfahren läßt sich das Genus *Klebsiella* von anderen Genera unterscheiden und in folgende Spezies und Subspezies einteilen (siehe auch Tab. 3):

- *K. oxytoca*
- *K. pneumoniae*
 - subsp. *pneumoniae*
 - subsp. *rhinoscleromatis*
 - subsp. *ozaenae*
- *K. terrigena*
 - K. planticola*

Die taxonomische Stellung von *K. oxytoca* ist nicht vollständig geklärt. Bergey's Manual (1984) führt diese

Spezies als eigenständige innerhalb des Genus *Klebsiella*.

Klebsiellen sind in der Natur ubiquitär verbreitet. Als Kommensalen besiedeln sie bei Warmblütern in geringer Keimzahl die Schleimhäute des Verdauungs- und Respirationstraktes. Auf der äußeren Haut stellen sie einen Teil der Normalflora dar.

K.pneumoniae ist beim Menschen verantwortlich für die Friedländer-Pneumonie. Ein großer Teil der Fälle des sogenannten "plötzlichen Kindstod" ist auf Infektionen mit Keimen der *Klebsiella-Enterobacter*-Gruppe zurückzuführen (Bendig et al., 1970).

Bei verschiedenen Vogelarten sind *K.pneumoniae* und *K. oxytoca* häufig zu finden. Darüber, ob Infektionen von Vögeln auf den Menschen oder umgekehrt übertragen werden, liegen in der Literatur nur wenige Berichte vor. Nach Gylstorff & Gerlach (1974) traten vermehrt *K.-*Isolate bei Vögeln auf, die in engem Kontakt mit dem Menschen leben, wie z.B. Wellensittiche, Kanarien oder Zwergpapageien.

Infektionsversuche mit *K.pneumoniae* bei Wellensittichen führten zu einer Keimausscheidung mit dem Kot über mehrere Tage. 8 Tage nach Versuchsbeginn konnten jedoch weder aus dem Kot noch aus den Organen *Klebsiellen* isoliert werden (Glünder, 1981).

Die Resistenz von *Klebsiella*-spp. gegen Tetracycline wird in der Literatur mit 7 % - 74 % angegeben (Bundesgesundheitsamt, 1986).

Knight et al. (1978) berichten von 31 % *K.-pneumoniae* und *K. oxytoca*-Stämme equiner Herkunft, die nicht durch Tetracycline in ihrem Wachstum gehemmt wurden. Aviäre Isolate des Institutes für Geflügelkrankheiten in München waren zu 38.6 % tetracyclinresistent (Gerlach, 1986). Nicolet (1985) gibt die approximative Minimumhemmkonzentration von Tetracyclin mit 2 µg/ml an.

2.2.2. *Bordetella (B.)-avium* [Kerstens et al., 1984]

Eine endgültige Klassifizierung des Genus *Bordetella* ist bislang nicht erfolgt. Nach Bergey (1984) wird es zur Zeit keiner Familie zugeordnet.

Bordetella avium ist eine neue Spezies des Genus *Bordetella* (in der angelsächsischen Literatur auch als *Alcaligenes* bezeichnete).

Das gramnegative, kurze, sporenlose Stäbchenbakterium läßt sich auf konventionellen Nährböden bei einem Temperaturoptimum von 37°C gut anzüchten und aufgrund seiner biochemischen Reaktionen identifizieren (s.Tab.4):

Tab.4: Biochemische Eigenschaften von *B.avium*
(nach Kersters et al.,1984)

Glucose	-
Gas a. Glucose	-
Lactose	-
Urease	-
Beweglichkeit	+
VP	-
Indol	-
LDC	+
Citrat	d
Oxydase	+
Malonat	-
Nitrat	-

B.avium ist der Erreger des sogenannten Putenschnupfens (Syn. Rhinotracheitis). Vor allem bei Putenküken, gelegentlich auch bei Enten, kommt es zu akut bis chronisch verlaufenden Erkrankungen des Respirationstraktes. Die Pathogenität von *B.avium* für andere Vogelarten, aus denen sie ebenfalls isoliert werden können, ist bisher nicht geklärt.

B.-spp. werden in der Literatur allgemein als tetracyclinempfindlich eingestuft (Bundesgesundheitsamt, 1986). Die approximative Minimumhemmkonzentration wird mit 0.5 µg/ml angegeben (Nicolet, 1985).

Nach Kelly et al. (1986) reagierten *B.avium*-Isolate aus Hühnern in vitro bei Resistenzprüfungen mittels Blättchen-Diffusions-Test empfindlich gegenüber CTC, OTC und TC. Therapieversuche blieben jedoch unbefriedigend; Rezidive traten auf (Mc.Capes, 1981; Siegmann, 1983).

2.2.3. Pasteurellaceae [Pohl,1981]

Die enge Verwandtschaft von Haemophilus, Pasteurella und Actinobacillus wurde von Pohl (1979) durch Desoxyribonucleinsäure- (DNS-) Hybridisationsversuche bestätigt. Die drei Genera sind in der Familie der Pasteurellaceae zusammengefaßt.

Ebenfalls mit der Renaturalisierungsmethode der DNS-Hybridation haben Piechulla et al.(1985) aviäre Isolate, die den Genera Pasteurella (P.) und Actinobacillus (A.) nahestehen, auf ihre Verwandtschaft untersucht und in Gruppen eingeteilt. Die Gruppen lassen sich durch biochemische Reaktionen unterscheiden (s. Tab.5):

Tab.5: Biochemische Reaktionen aviärer Pasteurellaceae (nach Piechulla et al.,1985)

	Haemolyse	D-Galaktose	m-Inositol	Maltose	Trehalose	Salicin	Aesculin	D-Mannit
Past.sp.Bisgaard Taxon 1	-	+	-	-	+	-	-	+
Past.sp.Bisgaard Taxon 4	-	+	-	-	-	-	-	.
Nähe Past.Bisgaard Taxon 2	-	+	+	-	-	-	-	+
4 Stammgruppen	-	+	+	-	-	-	-	+
Nähe Past.Bisgaard Taxon 3	-	+	+	-	-	-	-	+
2 Stammgruppen	-	+	+	-	-	-	-	+
P.-haemolytica-ähnliche und verwandte Keime	-	+	+	-	-	-	-	-
5 Stammgruppen	+	+	+	-	-	-	-	+
A.salpingitidis-Gruppe	+	+	+	+	(+)	-	-	+
4 Stammgruppen	+	+	-	+	+	-	-	+
β-haem.	+	-	-	+	+	+	+	+
A.-ähnliche	+	-	-	+	+	+	+	-

Die Angehörigen der Familie Pasteurellaceae sind gram-negative, unbewegliche, fakultativ anaerobe Stäbchen. Zur Unterscheidung der Genera Pasteurella (P.) und Actinobacillus (A.) sowie von derzeit nicht gültig benannten Stämmen (Actinobacillus-like), die vermutlich noch neu zu beschreibenden Genera angehören, werden morphologische Kriterien mitherangezogen. Pasteurella weist kokkoide bis ovoide Stäbchen auf, während Actinobacillus und Actinobacillus-like-Stämme zur Pleomorphie neigende dünne relativ lange Stäbchen haben, die sich häufig bipolar färben (Erstisolate). Sie wachsen auf Nährmedien mit Blut- und Serumzusatz, zuweilen mit β-Haemolyse (A. und A.-like). Die Lebensdauer der Oberflächenkulturen beträgt nur 5 - 7 Tage. Bei längerer Stammhaltung müssen die Kulturen innerhalb dieser Zeit auf neue Nährmedien umgeimpft werden.

2.2.3.1. Pasteurella (P.) [Trevisan, 1887]

P. multocida ist eine der sieben Spezies des Genus *Pasteurella* sensu stricto, die bei verschiedenen Vogelarten vorkommen (Pohl, 1979). Sie ist der Erreger der Geflügelcholera. Vor allem Hühnervogel und Wassergeflügel erkranken an dieser Seuche, aber auch bei Zier- und Wildvögeln treten Infektionen und Erkrankungen auf (Siegmann, 1983).

P. ureae besiedelt in geringer Keimzahl die Nasenschleimhaut von Mensch und Säugetieren, ist jedoch auch bei auf die Nase beschränkten Entzündungen beteiligt (Gedek, 1983). Über die Pathogenität bei den einzelnen Vogelarten ist in der zugänglichen Literatur nichts bekannt.

Die biochemischen Reaktionen von *P. multocida* und *P. ureae* sind in Tab. 6 zusammengefaßt.

Tab. 6: Biochemische Reaktionen von *P. multocida* und *P. ureae* (nach Bergey, 1984)

	<i>P. multocida</i>	<i>P. ureae</i>
Glucose	+	+
Gas a. Glucose	-	-
Lactose	d	+
Urease	-	+
Beweglichkeit	-	-
VP	-	-
Indol	+	-
LDC	-	-
Citrat	-	-
ONPG*	-	-
Oxydase*	+	+

* ONPG = Ortho-nitrophenol- β -galactosidase

* Oxydase = Cytochromoxydase

Eine Unterscheidung der *P. multocida*-Stämme in ihre Subspezies (*multocida*, *septica*, *gallicida*) ist nach Gerlach (1986) mit den üblichen biochemischen Zusatzreihen nicht überzeugend möglich.

Über die Empfindlichkeit von *P. multocida*-Stämmen liegen in der Literatur unterschiedliche Angaben vor. Nach Chang & Carter (1976) werden die Mehrzahl der *P. multocida*-Isolate durch eine OTC-Konzentration zwischen 2 und 8 $\mu\text{g/ml}$ gehemmt. Nicolet (1985) gibt die approximative Minimumhemmkonzentration mit 0.5 $\mu\text{g/ml}$ an. Bei Empfindlichkeitsprüfungen von Specht (1986) wurden drei Viertel der geprüften Stämme bei 8 $\mu\text{gOTC/ml}$, die rest-

lichen erst bei 64 bzw. 128 µg/ml im Wachstum gehemmt. Gerlach (1986) berichtet von 100%-iger Empfindlichkeit aviärer *P.multocida*-Isolate gegenüber Tetracyclin. *P.ureae*-Stämme sind nach Knight et al.(1978) zu 5 % tetracyclinresistent.

2.2.3.2. Actinobacillus (A.) und "Actinobacillus-like"

Nach Piechulla et al.(1985) lassen sich dem Genus *Actinobacillus* nahestehende aviäre Isolate aufgrund ihrer biochemischen Reaktionen einteilen (s.Tab.5). Versuchen Gerlachs (1986) zufolge waren weitere aviäre Isolate durch biochemische Untersuchungen nicht überzeugend in das Schema von Piechulla einzuordnen. Durch Untersuchung von 90 Stämmen aus einer Vielzahl von Vogelarten zeigte sich eine höhere Variationsbreite als von Piechulla vermutet. Gerlach (1986) dreiteilte die Gruppe der in der Literatur als *P.-haemolytica*-ähnlichen und *A.salpingitidis* bezeichneten Stämme (siehe auch Tab.5):

Die erste Gruppe nach Gerlach (1986) bestand vorwiegend aus nicht haemolisierenden Taubenstämmen. Über die Pathogenität dieser "Taubenstämmen" ist wenig bekannt. Da ein Stamm aus dem Gehirn einer Haustaube mit zentralnervösen Störungen isoliert wurde, liegt die Vermutung nahe, daß zumindest fakultative Pathogenität vorliegt.

Die zweite Gruppe wurde von Gerlach aufgrund einer β -Haemolyse und des Abbaus von Salicin und/oder Aesculin zusammengestellt. Über die Pathogenität dieser Keimgruppe ist nichts bekannt.

Keime der dritten Gruppe nach Gerlach sind β -haemolisierend und bauen weder Salicin noch Aesculin ab. Es sind vorwiegend Hühnerstämmen, die als pathogen angesehen werden können. Nach parenteraler Injektion war die Mortalität bei Eintagsküken des Haushuhns 100 % (Hintermayer, 1974). Histologisch ließen sich vorwiegend Gefäßveränderungen, die auch durch ein in steriler Kulturflüssigkeit der Keime gefundenes Toxin ausgelöst werden konnten, nachweisen.

Eine vierte Gruppe D-Galactose nicht fermentierender Isolate stellte Gerlach den "haemolytic A.-like"-Stämmen von Piechulla et al.(1985) gegenüber. Die Haemolyse wurde jedoch als nicht ausschlaggebend für die Zuordnung angesehen, da diese Eigenschaft oft durch Plasmide in eine Keimpopulation eingebracht werden kann. Auch zur Pathogenität dieser Gruppe ist nichts bekannt. Nach Piechulla et al.(1985) handelt es sich um Keime des Genus *Actinobacillus sensu stricto*.

Die Antibiotika-Empfindlichkeit von Angehörigen des Genus *Actinobacillus* ist nach Nicolet (1985) mit der von *Pasteurella* vergleichbar. Genaue Angaben über Minimumhemmkonzentrationen, insbesondere bei aviären A.-like-Stämme liegen in der Literatur nicht vor. Das liegt teilweise daran, daß Diffusionsteste häufig wegen übergroßen Hemmhöfen nicht ablesbar sind und diese Hemmhöfe nicht mit den Verhältnissen in vivo übereinstimmen (Gerlach, 1987; mündliche Mitteilung).

2.2.4. Mollicutes [Edward & Freundt, 1967]

Die Klasse Mollicutes (Ordnung Mycoplasmatales) enthält drei Familien mit insgesamt vier Genera (s. Tab. 7)

Tab. 7: Einteilung der Mollicutes (nach Bergey, 1984)

Klasse:	Mollicutes
Ordnung:	Mycoplasmatales
Familie I:	Mycoplasmataceae
Genus I:	Mycoplasma
Genus II:	Ureaplasma
Familie II:	Acholeplasmataceae
Genus I:	Acholeplasma
Familie III:	Spiroplasmataceae
Genus I:	Spiroplasma

Die Einordnung weiterer beschriebener Genera zu den Mollicutes bedarf noch der Bestätigung:

- *Thermoplasma*
- *Anaeroplasma*
- *Mycoplasma*-like-Organismen von Pflanzen und wirbellosen Tieren

Die Mycoplasmatales sind mit einem Durchmesser von 125-250 nm die kleinsten Mikroorganismen, die sich in zellfreiem Substrat vermehren können. Als Abgrenzung zur Umwelt dient den polymorphen Zellen im Gegensatz zu den Bakterien keine Zellwand, sondern lediglich eine dreischichtige Membran.

Die Anzüchtung gelingt nur auf speziellen Nährböden, in denen die für das Wachstum wichtigen Nährstoffe in einer inkorporierbaren Form vorliegen müssen (Adler et

al., 1954). Das Temperaturoptimum liegt bei 37°C. Bei pH-Werten von 7 und höher sind die besten Wachstumsergebnisse zu verzeichnen.

Da keine Zellwand vorhanden ist, sind Mollicutes gegenüber Penicillin G natürlich resistent. Thalliumacetat wird im Nährmedium in einer Konzentration von 1:2000 bis 1:4000 vertragen. Diese Eigenschaften wurden bei der Entwicklung von Selektivnährmedien nutzbar gemacht.

Je nach ihrer Hauptenergiequelle lassen sich die Mollicutes in Fermenter (Glucose-Abbau: Mykoplasmen und Acholeplasmen), Nichtfermenter (Arginin-Abbau: Mykoplasmen) und Ureaplasmen (Harnstoff-Abbau) einteilen (Gerlach, 1978).

Die Bestimmung der Cholesterin-Abhängigkeit kann direkt durch Wachstumsprüfung in cholesterinhaltigen- und -freien Medien erfolgen oder indirekt über die Messung der Empfindlichkeit gegenüber Substanzen, die mit Cholesterin des Mediums Komplexe bilden (z.B. Digitonin)

Weitere biochemische Verfahren zur Differenzierung der Mollicutes sind der Nachweis der Reduktion von 2,3,5-Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC) zu dem rötlichen Triphenylformazan sowie der Fähigkeit zur "film & spot"-Bildung. Bei einem Zusatz von 10 % Eigelb-Emulsion bildet sich hier auf der Oberfläche beimpfter Platten ein Film von kristallinem Material ("film & spot").

Die Serumabhängigkeit wird i.d.R. durch Vergleich beimpfter Platten mit und ohne Pferdeserum bestimmt.

Aus verschiedenen Vogelarten sind in den letzten Jahren eine Vielzahl von Mollicutes-spp. isoliert worden. Sie besiedeln oft als Kommensalen die Schleimhäute von Respirations- und Urogenitaltrakt. Die primäre Pathogenität ist bei den meisten Arten unbewiesen. Bei Vorschädigung z.B. durch Virusinfektionen können sich manche Mollicutes nach Generalisation in Parenchymen und in Gelenken ansiedeln und dort zu serofibrinösen Entzündungserscheinungen führen. Einige Spezies verursachen nach Besiedlung des Gehirns Arteriitis (Gerlach, 1981; 1986). Bei den auftretenden klinischen Symptomen stehen respiratorische Erscheinungen im Vordergrund und je nach Ansiedlung venerische Erkrankungen, zentralnervöse Störungen sowie Arthritiden. Lokale Schädigung der Schleimhäute durch Mollicutes kann Grundlage für bakterielle Sekundärinfektionen sein.

Mollicutes werden in der Literatur allgemein als empfindlich gegenüber Tetracyclinen eingestuft. Yamamoto & Adler berichten bereits 1956 über eine gute Wirksamkeit von Tetracyclinen gegen *Mycoplasma gallisepticum*. Empfindlichkeitsprüfungen von Newnham & Chu

(1965) ergaben für DMCT eine inhibitorische Wirksamkeit gegen *M.gallisepticum*, gefolgt von TC, CTC und OTC. Sensibel gegenüber CTC reagierten Mykoplasmen equiner Herkunft (Kirchhoff et al., 1972). Die approximative Minimumhemmkonzentration wird von Nicolet (1985) mit 0.15 bis 0.5 µg/ml angegeben. Raiber (1976) berichtet von MHK-Werten im Reihenverdünnungstest bei aviären Mykoplasmen-Stämmen zwischen 0.5 und 1.25 µg/ml.

2.3. Minimale Hemmkonzentration (MHK)

2.3.1. Definition

Die MHK ist die niedrigste Konzentration eines Wirkstoffes in $\mu\text{g/ml}$ (oder in "Einheiten je ml "), bei der die Vermehrung einer Keimpopulation unter definierten Bedingungen verhindert wird. In der englischen Literatur findet man die mit MHK identische Bezeichnung MIC (minimal inhibitory concentration) (Normenausschuß Medizin, 1979).

2.3.2. Technik

Die Bestimmung der MHK in der Reihenverdünnung liefert im Gegensatz zum indirekten Diffusionsverfahren direktere Werte. Dem Nährmedium, das ein gutes Wachstum der inoculierten Mikroorganismen ermöglichen sollte, werden fallende Konzentrationen des zu prüfenden Antibiotikums zugesetzt. Ericsson (1964) empfiehlt einen Konzentrationsabfall im 2-er Logarithmus.

Nach Inokulation des zu prüfenden Keims und anschließender Bebrütung läßt sich die Grenzkonzentration bestimmen, bei der der Keim gerade nicht mehr wächst, d.h. keine Trübung im Röhrchen sichtbar wird oder kein Farbumschlag eines evtl. zugesetzten Wachstumsindikators erfolgt (Hallmann & Burkhardt, 1974).

Bei der Bestimmung der MHK für Mykoplasmen wird zusätzlich von jedem Röhrchen, in dem kein Farbumschlag zu verzeichnen ist, ein Plattenausstrich gemacht (Raiber, 1976). Nach Friedrich (1970) können Antibiotika Stoffwechseleigenschaften von Mycoplasmen hemmen, ohne Wachstumseigenschaften erheblich zu beeinflussen. Da in diesem Fall keine pH-Verschiebung im Nährmedium erfolgt, werden die Röhrchen nicht umgefärbt. Somit werden hohe Empfindlichkeiten vorgetäuscht, die sich in vivo nicht bestätigen lassen (Gerlach, 1968).

Die MHK ist daher die Wirkstoffkonzentration, bei der auf der Platte nach 7-tägiger Bebrütung kein Kolonienwachstum feststellbar ist (Raiber, 1976). Bei Mykoplasmen wird demnach im Gegensatz zu Bakterien die minimale Abtötungskonzentration gemessen (Hallmann & Burkhardt, 1974).

Die Ergebnisse weichen bei Veränderungen der Versuchsbedingungen deutlich voneinander ab. Daher sollten nach Hallmann & Burkhardt (1974) die das Reihenverdünnungsverfahren beeinflussenden Faktoren weitgehend normiert werden:

2.3.2.1. Einsaatzmenge

Die Einsaatmenge sollte 10^4 Keime/ml Medium nicht übersteigen. Bei höheren Einsaatmengen reicht die Zahl der

Wirkstoffmoleküle nicht aus, um genügend Rezeptoren auf der Bakterienwand zu besetzen. Es wird eine Wirkungslosigkeit der betreffenden Wirkstoffkonzentration vorgetauscht (Meynell & Meynell, 1970).

Mykoplasmen können, wahrscheinlich aufgrund der Kleinheit der Zellen in Antibiotika-Verdünnungen mit bis zu 10^8 Keimen/ml Medium inokuliert werden. Höhere Einsaatmengen führen bei diesen langsam wachsenden Keimen zu übermäßiger Anreicherung von Stoffwechselprodukten im Nährmedium und damit zur Verfälschung der Ergebnisse (Raiber, 1976).

2.3.2.2. pH-Wert des Mediums

Der pH-Wert des Nährmediums ist so einzustellen, daß ein optimales Wachstum der Keime gewährleistet ist. Daß dieser Wert nicht in jedem Fall eine optimale Wirkung des Antibiotikums zuläßt, sollte bei der Auswertung der Ergebnisse berücksichtigt werden (Butler & Knight, 1960; Gerlach, 1968).

2.3.2.3. Stabilität des Wirkstoffs

Doxy ist bei 37°C instabil. Es kommt zu einem Aktivitätsabfall, was vor allem bei langsam wachsenden Keimen zu falsch hohen MHK-Werten führt (Newnham & Chu, 1965). Einem Untersuchungsbericht von Pfizer (1967) zufolge ist nach 8-tägiger Lagerung von Doxy bei 37°C mit einem Aktivitätsverlust von 40-50% zu rechnen. Die Messung des Aktivitätsverlustes kann durch Trübungs- oder Blättchenmethode erfolgen, wobei die Blättchenmethode exaktere Werte liefert. Als Prüfkeim für Tetracycline wird *Bacillus cereus* var. *mycoides* ATCC 11770 verwendet (Staatliches Veterinäruntersuchungsamt, Frankfurt, 1979; Hallmann & Burkhardt, 1974).

2.3.2.4. Entwicklungsphase der Keime

Für die Resistenzbestimmung werden Kulturen in der log-Phase verwendet (Meynell & Meynell, 1970). Die langsam wachsenden Mollicutes müssen, um gleichzeitig in die log-Phase zu gelangen, synchronisiert werden. Dies gelingt durch eine 24-stündige Aufbewahrung im Kühlschrank bei +4°C (Smith, 1971).

2.3.3. Auswertung

Bei der Auswertung des Reihenverdünnungsverfahrens wird der bestimmte MHK-Wert mit dem in vivo erreichbaren Blutspiegel in Beziehung gesetzt. Empfindlichkeit eines Erregers liegt vor, wenn seine MHK niedriger ist, als die unter therapeutischen Bedingungen bei üblicher Dosierung in vivo erreichbare Wirkstoffkonzentration am Ort der gewünschten Wirkung.

Da dies meist nicht meßbar ist, wird die Blutkonzentration des Wirkstoffs als Annäherungswert verwendet, obwohl erhebliche Fehler nicht auszuschließen sind.

Mäßige Empfindlichkeit eines Erregers liegt vor, wenn seine MHK niedriger ist, als die unter therapeutischen Bedingungen bei hoher Dosierung in vivo erreichbare Wirkstoffkonzentration am Ort der gewünschten Wirkung.

Resistenz eines Erregers liegt vor, wenn die zu seiner Hemmung oder Abtötung notwendige Wirkstoffkonzentration höher ist, als die in vivo realisierbare (Normenausschuß Medizin, 1979).

Die in der Literatur häufig divergierenden Ansichten über Resistenzen lassen sich zusätzlich durch unterschiedliche Definitionen des Begriffes erklären. Die Medizin und Veterinärmedizin richtet sich nach der im Patienten erreichbaren Blutkonzentration des Wirkstoffs (ohne wesentliche toxische Nebenwirkungen), die Naturwissenschaften wählen 100 µg/ml als Grenzwert für Resistenz (Kaemmerer, persönliche Mitteilung).

3. Eigene Untersuchungen

3.1. Versuchsplan

Nach biochemischer Differenzierung aviärer Stämme von Bakterien und Mollicutes wird deren Minimumhemmkonzentration (MHK) gegen Doxy durch Reihenverdünnungsverfahren in Röhrchen bestimmt. Gleichzeitig wird mittels Agar-Diffusion ("Blättchenmethode") geprüft, ob nach Bebrütung bei 37°C über 24 Stunden ein Aktivitätsabfall von Doxy nachweisbar ist. Mit der gleichen Methodik wird auch die Konzentration der Verdünnungsreihe kontrolliert.

3.2. Material und Methode

3.2.1. Erstisolierung

Die Erstisolierung der Bakterienstämme wurde in der im Routinelabor üblichen Weise durchgeführt. Für Mollicutes sind besondere Verfahren und Nährböden erforderlich (siehe später).

Escherichia (E.) coli

Die E.coli-Isolate wurden aus Kotproben und Sektionsmaterial folgender Tierarten gewonnen (siehe auch Tab.10 - 15):

- Hühnermastküken (30 Stämme)
- Haustauben (20 Stämme)
- Hausenten (20 Stämme)
- Hausputen (20 Stämme)
- Hausgänse (16 Stämme)
- Moschusenten (9 Stämme)

Die Erstisolierung erfolgte im Institut für Geflügelkrankheiten der Universität München sowie durch den Tiergesundheitsdienst Bayern in Grub. Mit Ausnahme von zwei Isolaten (Tgb.Nrn.2314,2317) aus Sektionsmaterial von norddeutschen Hühnermastbeständen, handelte es sich um Stämme aus dem süddeutschen Raum.

Salmonella (S.)

Die 20 untersuchten Salmonella-Isolate stammten aus Kot- und Organmaterial von Rasse-, Reise- und Wildtauben aus Süddeutschland (siehe Tab.16). Es handelte sich ausschließlich um *S.typhimurium* var. *copenhagen* (in dankenswerter Weise vom Bundesgesundheitsamt Berlin, Robert von Ostertag-Institut, differen-

ziert).

Citrobacter

20 Citrobacter-Isolate wurden aus Kotproben und Sektionsmaterial von verschiedenen Vogelarten im Institut für Geflügelkrankheiten München gewonnen. Das Wirtsreservoir war weit gefächert. Neben Käfig- und Volierenvögeln beherbergten auch Wildvögel Citrobacter-Stämme (siehe Tab.17).

Klebsiella

20 Klebsiella-Stämme wurden aus Kotproben und Sektionsmaterial von Klinikpatienten der Vogelklinik Oberschleißheim sowie aus Kotproben von Mönchsgrasmücken aus dem Einzugsgebiet der Vogelwarte Radolfszell isoliert (siehe Tab.18).

Bordetella

6 Bordetella avium Stämme wurden aus Taubeneiern, Gänseblut sowie Kotproben und Sektionsmaterial verschiedener Vogelarten gewonnen (siehe Tab.19).

Pasteurella

Die Erstisolierung der 20 untersuchten Pasteurella-Isolate erfolgte aus Kotproben und Organen verschiedener Zier- und Wildvögel aus dem Einzugsgebiet München und Umgebung sowie Wirtschaftsgeflügel aus dem süddeutschen Raum (siehe Tab.20).

Actinobacillus

Aus Organen und Trachealabstrichen verschiedener Vogelarten wurden im Institut für Geflügelkrankheiten in München 17 Actinobacillus-like- und 3 Actinobacillus-Stämme gewonnen (siehe Tab.21).

Mollicutes

Die Isolierung der Mollicutes-Feldstämme erfolgte aus Sektionsmaterial sowie Trachealabstrichen von Klinikpatienten der Vogelklinik Oberschleißheim (siehe Tab.22).

Technik

Das zu untersuchende Material wurde mit sterilen Tupfern entnommen und in sogenannte Overlayröhrchen (biphasisches Medium aus Agar und Überdeckung mit Flüssig-

keit) nach Adler et al. (1954) übertragen (siehe später). Nach 8-tägiger Bebrütung bei 37°C wurde Flüssigkeit aus den Röhrchen auf PPL0-(pleuro-pneumonia-like-organisms-) Platten ausgestrichen und gleichzeitig 1 ml auf ein neues Overlayröhrchen überimpft (Blindpassage). PPL0-Platte und Overlay-Röhrchen wurden erneut ungefähr 8 Tage bei 37°C gebrütet, die PPL0-Platten in einer feuchten Kammer. Von den bewachsenen Platten wurden kleine Agarstückchen mit einem sterilen Messer entnommen und in Overlayröhrchen transferiert. Falls kein Wachstum auf der Platte erkennbar war, wurde Material aus dem als Blindpassage bezeichneten Röhrchen auf PPL0-Platte ausgestrichen und wie beschrieben weiter behandelt.

Herstellung der Medien

- Overlay-Röhrchen nach Adler (Rezept 1)

Difco-PPL0-Agar	21.0 g
Hefeautolysat	55.0 ml (Rezept 3)
Thalliumacetat 10%	5.0 ml
Aqua bidest.	ad 1000.0 ml

Nach Autoklavieren und Abkühlen auf 56°C wurden 1000 I.E. Penicillin G/ml und 100 ml Pferdeserum (Oxoid, Code SR 35) zugegeben. Das Pferdeserum wurde zuvor durch EKS-2-Filter sterilfiltriert und 30 min. bei 56°C inaktiviert.

Mit diesem Medium wurden kurze Schrägröhrchen gegossen, 24 Stunden stehengelassen und dann mit 7 ml PPL0-Broth (Rezept 2) überschichtet.

- Herstellung der PPL0-Broth (Rezept 2)

Difco PPL0-Broth	21.0 g
Thalliumacetat 10%	5.0 ml
Hefeautolysat	55.0 ml
Aqua bidest.	ad 1000.0 ml

Nach Autoklavieren und Abkühlen auf 56°C Zugabe von

Penicillin G	1000 I.E.
Pferdeserum (w.oben)	100 ml

- Herstellung der PPL0-Platten

Difco PPL0-Agar nach Rezept 1 wurde in Plastikpetrischalen (90 mm) ausgegossen und in einer feuchten Kammer bis zum Gebrauch kühl gelagert.

- Herstellung des Hefeautolysates (Rezept 3)

Es wurden 120 g Bäckerhefe in 200 ml Aqua dest. sus-

pendiert und in einem bedeckten Glaskolben im Wasserbad bei 56°C über 48 Stunden autolytisiert. Der durch Zentrifugieren (30 000g) erhaltene Überstand wurde durch Seitz K-7 Filter klarfiltriert und im Gefrierschrank bei -20°C bis zum Gebrauch aufbewahrt.

3.2.2. Biochemische Untersuchungen

3.2.2.1. Bakterienstämme

Die Bestimmung der einzelnen Spezies erfolgte bei den untersuchten Bakterien nach Bergey's Manual (1984) und Piechulla et al. (1985), bei den Mollicutes nach Gerlach (1985; 1978).

Zur biochemischen Differenzierung der Enterobacteriaceae, der Pasteurellaceae und von Bordetella avium diente eine verkürzte "Bunte Reihe". Im einzelnen wurden folgende Untersuchungen durchgeführt:

- Nachweis von Glucose-, Lactosespaltung und H₂S-Bildung sowie Gasbildung aus Glucose im Kligler-Röhrchen
- Nachweis einer Ureaseaktivität
- Bestimmung der Beweglichkeit
- Acetoinbildung im Medium nach Voges Proskauer
- Nachweis einer Indolproduktion
- Nachweis einer Lysin-Decarboxylase (LDC)
- Nachweis der Citratverwertung nach Simmons

Als Zusatzuntersuchungen wurden bei Bedarf folgende Verfahren verwendet:

- Wachstum in Gegenwart von Kaliumcyanid (KCN)
- Nachweis einer Phenylalanin-Decarboxylase
- Nachweis der Malonat-Verwertung
- Nachweis der NO₃-Reduktion
- Nachweis von Ortho-nitrophenol-β-Galactosidase (ONPG)
- Nachweis einer Cytochromoxydase

Für die Differenzierung der Actinobacillus-Gruppe diente eine längere Zusatzreihe, bestehend aus 14 Reaktionskörpern:

Verwertung bzw. Spaltung von

- Salicin
- Raffinose
- Maltose
- Stärke
- Arabinose
- Sorbitol
- D-Mannit

- Galactose
 - Xylose
 - Ducitol
 - Trehalose
 - Aesculin
 - m-Inositol
- sowie
- Ornithindecaboxylase-Nachweis

Als Nährboden wurden die üblichen Trockennährböden von Merck oder Oxoid verwendet sowie die Biochemica von Merck.

3.2.2.2. Mollicutes-Stämme

Zur biochemischen Bestimmung der Mollicutes-Stämme wurden folgende Verfahren angewandt:

Abbaufähigkeit von Glucose

Difco PPLO-Broth (siehe Rezept 2) mit einem Zusatz von 1% Glucose und 0.005% Phenolrot als Indikator wurde beimpft und 10 Tage bei 37°C bebrütet. Ein deutlicher Farbumschlag gegenüber unbeimpften Röhrchen von rot nach gelb wurde als Glucoseabbau gewertet.

Abbaufähigkeit von Arginin

Difco PPLO-Broth (siehe Rezept 2) mit 1% Arginin und 0.005% Phenolrot zeigten nach 10-tägiger Bebrütung gegenüber einer unbeimpften Kontrolle durch deutlich stärkere Rotfärbung eine Alkalisierung und damit Argininabbau an.

Abbaufähigkeit von Harnstoff

Difco PPLO-Broth wurde mit einem Zusatz von 1% Harnstoff (steril filtriert durch Millipormembranfilter 0.22 µm) und 0.005% Phenolrot hergestellt und beimpft. Nach 10-tägiger Bebrütung wurde der pH aller Röhrchen gegen eine Wachstumskontrolle ohne Harnstoff- und Phenolrotzusatz sowie gegen eine unbeimpfte Kontrolle gemessen. Ein pH-Anstieg, der 0.1-0.4 nicht überschritt wurde als unspezifisch gewertet.

Fähigkeit zur Reduktion von Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC)

Difco PPLO-Broth (siehe Rezept 2) mit TTC 1:3000 (Difco) wurde beimpft und 10 Tage bebrütet. Ein rötlich-violetter Farbumschlag mit und ohne dunkelviolettem Niederschlag zeigte Reduktion an.

Empfindlichkeit gegen Digitonin

Papierblättchen (Schleicher & Schüll, Nr. 2668) wurden mit einer 1.5%-igen Lösung von Digitonin (Merck) getränkt und auf beimpfte PPL0-Platten aufgelegt. Die Beurteilung der Platten erfolgte nach 10-tägiger Bebrütung unter dem Mikroskop. Hemmhöfe über 3 mm galten als spezifische Hemmung, unter 3 mm als unspezifische.

Fähigkeit zur "film & spot"-Bildung

PPL0-Platten (Rezept 1) wurden mit einem Zusatz von 10% Eigelb (Oxoid) hergestellt und beimpft. Nach 5-10 Tagen zeigte sich auf der Oberfläche "film & spot"-bildender Stämme eine im Auflicht changierende Fläche, die sich unter dem Mikroskop als aus nadelförmigen Kristallen bestehend zeigte.

Serumabhängigkeit

PPL0-Platten wurden mit und ohne Pferdeserum hergestellt und nach 10 Tagen Bebrütung das Vorhandensein von Kolonien unter dem Mikroskop beurteilt.

3.2.3. Stammhaltung

Die differenzierten Enterobacteriaceae und Bordetella-avium-Stämme wurden bei 4°C auf Difco-Nutrient-Schrägagar-Röhrchen im Kühlschrank bis zur Resistenzprüfung gelagert.

Die Lagerung der Pasteurellaceae erfolgte bei 4°C auf Blutplatten. Zweimal wöchentlich wurden die Stämme auf neue Platten geimpft.

Die Mollicutes wurden im Brutschrank bei 37°C aufbewahrt und im Abstand von 14 Tagen auf frische Overlay-Röhrchen überimpft.

3.2.4. Bestimmung der Minimumhemmkonzentration (MHK)

Die Bestimmung der MHK erfolgte im Reihenverdünnungsverfahren in Röhrchen mit fallenden Konzentrationen von Doxy. Nach Vorverdünnung von 1 g Doxy mit Aqua dest. in Meßkolben bis zu einer Konzentration von 256 µg/ml, wurde das Konzentrationsgefälle durch eine 2-er Logarithmusreihe, wie von Ericsson (1964) empfohlen, erreicht. Ein beimpftes Röhrchen ohne Antibiotikazusatz diente als Wachstumskontrolle. Mit Hilfe einer gleich-

zeitig mitgeführten Kontrollreihe ohne Inoculum konnte der Aktivitätsabfall von Doxy gemessen werden (siehe später).

3.2.4.1. Medien

Als Medium für die zu überprüfenden Bakterienstämme wurde Difco-Müller-Hinton-Broth verwendet. Die MHK-Bestimmung der Mollicutes-Stämme erfolgte in Difco-PPL0-Broth (siehe Kap.3.2.1., Rezept 2) mit den genannten Zusätzen. Der pH-Wert der Müller Hinton-Broth betrug 7, der von PPL0-Broth 7.2.

3.2.4.2. Inoculum

Als Inoculum diente 0.05 ml einer Bakteriensuspension bzw. 0.1 ml einer Mollicutes-Flüssigkultur. Zur Synchronisation der Mollicutes-Stämme wurde die Flüssigkultur vor dem Inokulieren 48 Stunden bei 37°C bebrütet und anschließend 24 Stunden im Kühlschrank bei 4°C aufbewahrt. Die Bestimmung der Einsaatmenge erfolgte parallel zum Reihenverdünnungstest durch Titration. Sie betrug im Durchschnitt 10^5 Bakterienkeime/ml Medium. Die Mollicutes-Isolate wurden mit durchschnittlich 10^7 Keimen/ml PPL0-Broth inokuliert.

3.2.4.3. Ablesemodus

Abgelesen wurde die MHK der Bakterienstämme nach 24 Stunden Bebrütung bei 37°C. Alle Röhrchen mit Müller-Hinton-Broth, die keine Trübung aufwiesen wurden als ohne Wachstum beurteilt. Die Grenzkonzentration, bei der gerade keine Trübung mehr auftrat, wurde als MHK bezeichnet.

Die Verdünnungsreihen mit den langsam wachsenden Mollicutes erlaubten eine Beurteilung erst nach 10 Tagen Bebrütung. Aus allen Röhrchen, die keinen Farbumschlag des zugesetzten Wachstumsindikators Phenolrot aufwiesen, wurde mit einem sterilen Tupfer Flüssigkeit auf PPL0-Platten ausgestrichen. Nach 7-tägiger Bebrütung in einer feuchten Kammer erfolgte die Beurteilung der Platten unter dem Mikroskop. Die Grenzkonzentration, bei der auf der Platte kein Wachstum mehr nachweisbar war, wurde als MHK bezeichnet.

Bei allen geprüften Feldstämmen wurde zusätzlich ein Antibiogramm mit Hilfe eines Diffusionsverfahrens (Blättchenmethode) gemacht und mit den Ergebnissen der Reihenverdünnung verglichen. Die Papierblättchen (Oxoid) waren mit Doxy in einer Konzentration von 30 µg/Blättchen getränkt.

3.2.5. Messung des Aktivitätsabfalls von Doxy

Die Kontrolle der Konzentration und der Aktivitätsabfall von Doxy nach 24 Stunden Bebrütung bei 37°C wurde in der zu jeder MHK-Bestimmung als Kontrolle mitgeführten unbeimpften Verdünnungsreihe gemessen. Eine Ausnahme bildeten die Verdünnungsreihen mit PPL0-Broth, da sie sich wegen des Penicillin- und Thalliumzusatzes im Medium für eine mikrobiologische quantitative Bestimmung nicht eigneten.

Vor der Bebrütung der Röhrchen und 24 Stunden danach noch einmal wurde pro Konzentration ein Papierblättchen (Schleicher & Schüll, Nr. 2668) mit Hilfe einer sterilen Pinzette aufgenommen, mit der Röhrchenflüssigkeit getränkt, feucht auf eine Sporenagar-Platte (siehe später) gelegt und leicht angedrückt. Die Sporenplatten wurden 24 Stunden bebrütet und die Durchmesser der entstandenen Hemmhöfe mit einer Schublehre gemessen.

Die Werte wurden zunächst auf halblogarithmisches Papier in Form eines Streudiagramms übertragen. Die statistische Auswertung erfolgte nach dem Verfahren der linearen Einfachregression mit anschließender Darstellung der Regressionsgeraden im Streudiagramm (siehe Graphik 1).

Herstellung der Sporensuspension

5 Schrägagar-Röhrchen (Difco Nutrient-Agar) wurden mit *Bacillus cereus* var. *mycoides* ATCC 11778* dicht beimpft und 24 Stunden bei 37°C bebrütet. Anschließend wurden die mit 5 ml sterilem Aqua dest. abgeschwemmten Kolonien der 5 Röhrchen auf eine Kolleschale gebracht, die 300 ml Nutrient-Agar enthielt. Die gut auf der Oberfläche verteilten Keime wurden 1 Woche bei 37°C bebrütet und danach mit ca. 30 ml sterilem Aqua dest. abgeschwemmt. Nach 30 Minuten Erhitzen im Wasserbad bei 62°C waren die vegetativen Formen des *Bacillus* abgetötet. Danach wurde die Suspension mit 30 000 g zentrifugiert, der Überstand verworfen und der Bodensatz mit sterilem Aqua dest. aufgenommen. Dieser Waschvorgang wurde dreimal wiederholt. Anschließend wurde der Keimgehalt des Sedimentes durch Titration in Difco Heart-Infusion-Broth bestimmt und auf eine Keimzahl von 5×10^7 Sporen/ml eingestellt. Die Aufbewahrung der Sporensuspension erfolgte in 2 ml-Portionen im Kühlschrank.

*Herrn Dr. H.-J. Philipp, Karlsruhe danke ich hiermit sehr herzlich für das Überlassen von *Bacillus cereus*-Kulturen zur Herstellung der Sporensuspension.

Herstellung des Sporenagars

100 ml Difco Müller-Hinton-Agar wurden auf einen pH von 5.7 eingestellt und autoklaviert. Nach Abkühlen auf 50°C und Zugabe von 0.5 ml der Sporensuspension wurden je 4 ml Agar mit einer Pipette auf planparalleler Unterlage in Plastikpetrischalen (90 mm) ausgegossen. Bis zum Gebrauch am selben Tag wurden die Platten im Kühlschrank gelagert.

4.0. Ergebnisse

4.1. Differenzierung der untersuchten Mikroorganismen

E.coli

Die Isolate zeigten sich als typisch für E.coli (Bergey's Manual, 1984). Lediglich drei Puten-Stämme wiesen Abweichungen auf: Fehlen der LDC bei zwei Stämmen (Tgb.Nrn.B535, B536), einer davon auch ohne Indol-Bildung. Ein dritter Stamm (Tgb.B431) bildete ebenfalls kein Indol.

Salmonella

Durch die "Bunte Reihe" ließen sich die Keime dem Genus Salmonella zuordnen. Nach dem Ergebnis der serologischen Untersuchung handelt es sich bei allen 20 Isolaten um die Spezies Salmonella typhimurium var. copenhagen.

Alle Stämme zeichneten sich durch fehlende Maltosespaltung aus.

Die Ergebnisse der serologischen und biochemischen Untersuchungen sprechen für das Vorliegen spezifischer Taubenstämme (Wuthe, 1978).

Citrobacter

12 Stämme wurden als Citrobacter freundii und 8 Stämme als Citrobacter amalonaticus identifiziert.

Klebsiella

Folgende Spezies wurden isoliert:

Klebsiella oxytoca	(7 Stämme)
Klebsiella pneumoniae	(11 Stämme)
Klebsiella pneumoniae var. ocaenae	(2 Stämme)

Bordetella

Alle Isolate gehörten der Spezies Bordetella avium an.

Pasteurella

2 Stämme wurden als Pasteurella ureae und 18 Isolate als Pasteurella multocida identifiziert.

Actinobacillus

Die 3 Actinobacillus- und 17 Actinobacillus-like-Stämme ließen sich nach Piechulla et al. (1985) und Gerlach (1986) wie folgt einteilen (siehe Tab.8):

Tab.8: Biochemische Reaktionen der Actinobacillus-like-Isolate

1. Gruppe "Tauben- stämme" Referenz- Stämme n. Gerlach	Zahl d. Stämme	Haemo- Lyse	Galac- tose	m-Ino- sitol	Mal- tose	Treha- lose	Sali- cin	Aescu- lin	D-Man- nit
	16	-	+	d	d	d	d	d	d
eigene Isolate	1	-	+	+	+	+	-	+	+
	1	-	+	+	+	-	-	-	+
	1	-	+	+	+	+	-	?	-
	1	-	+	+	+	+	-	-	-
	1	-	+	+	?	-	-	-	+
	1	-	+	-	-	-	-	?	-
2. Gruppe Referenz- Stämme n. Gerlach	8	+	+	d	d	d	d	d	d
eigene Isolate	1	+	+	-	+	+	+	+	+
	1	+	+	+	+	+	+	-	+
	1	+	+	+	+	+	-	-	+
3. Gruppe "Hühner- Stämme" Referenz- Stämme n. Gerlach	10	+	+	+	+	+	-	-	+
	4	+	+	-	+	+	-	-	+
eigene Isolate	7	+	+	+	+	+	-	-	+
	1	+	+	-	+	+	-	-	+
4. Gruppe "haem. A.-like" Referenz- Stämme n. Gerlach	15	d	-	d	d	d	d	d	+
eigene Isolate	1	+	-	+	+	+	-	-	+
	1	-	-	-	+	-	-	?	+
	1	+	-	-	+	+	-	?	+

? = nicht gewachsen

Mollicutes

Durch ihre biochemischen Reaktionen konnten die 26

Mollicutes-Stämme wie folgt eingeteilt werden:

Mycoplasma columbonasale	(10 Stämme)
Mycoplasma gallinarum	(1 Stamm)
Acholeplasma Biotyp IV	
nach Gerlach	(1 Stamm)
Mycoplasma pullorum	(1 Stamm)
Mycoplasma Biotyp V	
nach Gerlach	(3 Stamm)
Mycoplasma nach Fawzia	(2 Stämme)
Acholeplasma laidlawii	(1 Stamm)
nicht differenziert	(7 Stämme)

4.2. Ergebnisse der MHK-Bestimmung (siehe auch Tab.10-22)

Bei MHK-Werten von 128 µg/ml bis 8 µg/ml wurden die untersuchten Keime als resistent, bei Werten von 4 µg/ml bis 1 µg/ml als mäßig empfindlich und bei Werten von 0.5 µg/ml bis 0.031 µg/ml als empfindlich gegenüber Doxy eingestuft (Hallmann & Burkhardt, 1974). Die Ergebnisse der MHK-Bestimmung sind in Tab.9 zusammengefaßt:

Tab.9: Ergebnisse der MHK-Bestimmung

	empfind- lich (Stämme)	mäßig empfind- lich (Stämme)	un- empfind- lich (Stämme)	Blättchen- methode (Stämme)	
				+	- *
E.coli ges.	1	61	53	66	49
E.coli von:					
Boiler	-	14	16	17	13
Tauben	-	13	7	13	7
Enten	1	9	10	10	10
Moschus-					
enten	-	7	2	8	1
Gänsen	-	9	7	9	7
Puten	-	9	11	9	11
Salmonella	-	20	-	18	2
Citrobacter	2	14	4	17	3
Klebsiella	-	10	10	12	8
Bordetella	1	5	-	6	
Pasteurella	18	2	-	19	1
Actinobac- like	1	11	5		
Actino- bacillus	1	1	1		
Mollicutes		11	15		

* + = empfindlich ; - = unempfindlich

4.3. Tabellen

Für die wissenschaftliche Bezeichnung der Vogelarten in nachfolgenden Tabellen wurde die Systematik von Wolters (1975-1982) herangezogen.

Tab.10: Minimumhemmkonzentration von E.coli-Stämmen gegen Doxycyclin

Vogelart	Tgb.No	MHK (µg/ml)	Bemerkungen
Hühnermast- küken ¹	2317	128	Großbestand Norddeutschland
"	2314	32	Großbestand Norddeutschland
"	Grub	32	Wirtschaftsgeflügel
"	Grub	32	" "
"	Grub	32	" "
"	Grub	32	" "
"	Grub	32	" "
"	127	16	Großbestand Norddeutschland
"	Grub	16	Wirtschaftsgeflügel
"	670	16	" "
"	Grub	16	" "
"	497	16	" "
"	740	16	" "
"	Grub	16	" "
"	Grub	16	" "
"	495	4	" "
"	Grub	4	" "
"	883	4	" "
"	498b	4	Kleinbestand
"	498a	2	Kleinbestand
"	Grub	2	Wirtschaftsgeflügel
"	895	2	Kleinbestand
"	Grub	2	Wirtschaftsgeflügel
"	Grub	2	" "
"	Grub	1	" "
"	Grub	1	" "
"	Grub	1	" "
"	Grub	1	" "
"	Grub	1	" "

¹ Gallus gallus domesticus

Tab.11: Minimumhemmkonzentration (MHK) von E.coli-Stämmen gegen Doxycyclin

Vogelart	Igb.No.	MHK (µg/ml)	Bemerkungen
Haustaube ¹	605	32	Rassetaube
"	VK1204	32	Rassetaube
"	VK1205	16	Rassetaube
"	VK 350a	16	Reisetaube
"	805	16	Rassetaube
"	722	16	Rassetaube
"	VK1286b	16	Rassetaube
"	542	4	Reisetaube
"	547	4	Reisetaube
"	VK1175	2	Reisetaube
"	VK1029	2	Rassetaube
"	VK1009/1	2	Rassetaube
"	VK 986	2	Rassetaube
"	758	2	Wildvogel
"	VK1345	2	Rassetaube
"	701	2	Rassetaube
"	VK1233	2	Rassetaube
"	VK1216	2	Reisetaube
"	VK1257	1	Rassetaube
"	773	1	Wildvogel

¹ Columba livia domestica

Tab.12: Minimumhemmkonzentration (MHK) von E.coli-Stämmen gegen Doxycyclin

Vogelart	Tgb.No.	MHK (µg/ml)	Bemerkungen
Tafelente ¹	1567	32	Kleinbestand
Stockente ²	1580a	32	"
Stockente	1580b	32	"
Tafelente	1642	32	"
"	1893	32	"
"	Grub	32	Wirtschaftsge- flügel
"	Grub	32	"
Stockente	1574	16	Kleinbestand
Zimtente ³	1660	16	"
Tafelente	Grub	8	Wirtschaftsge- flügel
Stockente	Grub	4	"
Stockente	1067	4	Kleinbestand
Tafelente	Grub	2	Wirtschaftsge- flügel
"	Grub	2	"
"	Grub	2	"
"	1864	2	Kleinbestand
"	1635	2	"
Stockente	Grub	2	Wirtschaftsge- flügel
Tafelente	2378	1	Kleinbestand
Zimtente	1392	0.5	"

¹ Aythya ferina (L.,1758)

² Anas platyrhynchos (L.,1758)

³ Spatula cyanoptora (Viell.,1816)

Tab.13: Minimumhemmkonzentration (MHK) von E.coli-Stämmen gegen Doxycyclin

Vogelart	Tgb.No.	MHK (µg/ml)	Bemerkungen
Moschusente ¹	1485	16	Kleinbestand
"	240	8	"
"	1411	4	"
"	1626	4	"
"	656	2	"
"	1381a	2	"
"	982	2	"
"	1077b	2	"
"	1381b	2	"

¹ Cairina moschata (L.,1758)

Tab.14: Minimumhemmkonzentration (MHK) von E.coli-Stämmen gegen Doxycyclin

Vogelart	Tgb.No.	MHK (µg/ml)	Bemerkungen
Hausgans ¹	1343	32	Kleinbestand
Hausgans	VK2573a	32	"
Nilgans ²	337	32	"
Rothalsgans ³	1474	16	"
Hausgans	700	16	"
"	1221	8	"
"	822	8	"
"	Grub	4	Wirtschaftsge- flügel
"	1416	4	Kleinbestand
"	1581	4	"
Schneegans ⁴	1043	4	"
Streifengans ⁵	1086	4	"
Hausgans	1529	4	"
Streifengans	1087	2	"
Rothalsgans	179	2	"
Streifengans	1391	1	"

¹ Anser anseris

² Alopochen aegyptiacus (L.,1766)

³ Rufibrenta ruficollis (Pall.,1969)

⁴ Chen caerulescens (L.,1758)

⁵ Eulabeia inica (Lath.,1790)

Tab.15: Minimumhemmkonzentration (MHK) von E.coli-Stämmen gegen Doxycyclin

Vogelart	Tgb.Nr.	MHK (µg/ml)	Bemerkungen
Pute ¹	Grub	64	Wirtschaftsge- flügel
"	"	64	"
"	"	64	"
"	"	64	"
"	"	32	"
"	"	32	"
"	"	32	"
"	"	32	"
"	"	16	"
"	"	8	"
"	"	8	"
"	"	4	"
"	"	4	"
"	"	2	"
"	"	2	"
"	"	2	"
"	"	2	"
"	"	2	"
"	"	2	"

¹ Meleagris gallopova

Tab.16: Minimumhemmkonzentration (MHK) von Salmonella-Stämmen gegen Doxycyclin

Vogelart	Tgb.No.	MHK (µg/ml)	Bemerkungen
Haustaube ¹	VK3677	4	Rassetaube
"	1854	4	Rassetaube
"	1471	4	Rassetaube
"	1404	4	Reisetaube
"	903	2	Rassetaube
"	1962b	2	Rassetaube
"	1506	2	Reisetaube
"	1822	2	Rassetaube
"	987	1	Reisetaube
"	Stall 1	1	Wildvogel
"	1810	1	Rassetaube
"	1823	1	Rassetaube
"	1033b	1	Rassetaube
"	1962a	1	Rassetaube
"	VK1878	1	Reisetaube
"	1316	1	Rassetaube
"	1466	1	Rassetaube
"	VK2662	1	Reisetaube
"	VK2325	1	Rassetaube
"	1561	1	Reisetaube

¹ Columba livia domestica

Tab.17: Minimumhemmkonzentration (MHK) von Citrobacter-Stämmen gegen Doxycyclin

Vogelart	Tgb.No.	Bakt.-Spezies	MHK(µg/ml)	Bemerkungen
Blaustirn-amazone ¹	VK1583/5	C.freundii	128	Vogelpark
Tigerfink ²	VK1749	C.freundii	16	Käfigvogel
Tariktik-hornvogel ³	VK 749/J	C.amalonaticus	8	Vogelpark
Soldatenara ⁴	VK1812/0	C.freundii	8	Bestand
Gelbhauben kakadu ⁵	648	C.freundii	4	Bestand
Straußen-wachtel ⁶	VK 769/N	C.amalonaticus	4	Vogelpark
Goldrücken-specht ⁷	VK 769/L	C.amalonaticus	4	Vogelpark
Wellensittich ⁸	891	C.freundii	4	Käfigvogel
Roter Kardinal ⁹	946	C.amalonaticus	4	Vogelpark
Haustaube ¹⁰	VK1195	C.freundii	4	Bestand
Kohlmeise ¹¹	995	C.freundii	4	Wildvogel
Rotohrara ¹²	VK1678	C.freundii	2	Bestand
Sperling ¹³	876	C.freundii	2	Wildvogel
Dunkelroter Ara ¹⁴	VK1812	C.amalonaticus	2	Bestand
Inkakakadu ¹⁵	394	C.amalonaticus	2	Bestand
Bleßhuhn ¹⁶	396	C.amalonaticus	2	Wildvogel
Riesenkolibri ¹⁷	945	C.freundii	2	Vogelpark
Orangebrust ¹⁸	VK1812/4	C.amalonaticus	1	Bestand
Arassari ¹⁹	703	C.freundii	0.5	Bestand
Wellensittich	1036	C.freundii	0.25	Käfigvogel

- ¹ Amazona aestiva (L.,1758)
- ² Amandava amandava (L.,1758)
- ³ Penelopides panini (Bodd.,1783)
- ⁴ Ara militaris (L.,1766)
- ⁵ Cacatua galerita (Lath.,1790)
- ⁶ Rollulus rouloul (Scop.,1786)
- ⁷ Mesopicos griseocephalus (Bodd.1783)
- ⁸ Melopsittacus medulatus (Shaw,1805)
- ⁹ Cardinalis cardinalis (L.,1758)
- ¹⁰ Columba livia domestica
- ¹¹ Parus major L.,1758
- ¹² Ara rubrogenys Lafr.,1848
- ¹³ Passer domesticus (L.,1758)
- ¹⁴ Ara chloroptera Gray,1859
- ¹⁵ Cacatua leadbeateri (Vig.,1831)
- ¹⁶ Fulica atra L.,1758
- ¹⁷ Patagona gigas (Vieill.,1824)
- ¹⁸ Nannopsittacus gullielmitertii (Schleg.,1886)
(Orangebrust Zwergpapagei)
- ¹⁹ Selenidera reinwardtii (Wagl.,1827)

Tab.18: Minimumhemmkonzentration (MHK) von Klebsiella-Stämmen gegen Doxycyclin

Vogelart	Tgb.No.	Bakt.-spp.	MHK µg/ml	Bemerkungen
Nektarvogel ¹	783	K.pneumoniae	128	Vogelpark
Wellensittich ²	926	K.oxytoca	32	Volierenvogel
Haushuhn ³	VK1466	K.oxytoca	32	Wirtschaftsge- geflügel
Grünflügel- papagei ⁴	843	K.pneumoniae	16	Volierenvogel
Mönchsgras- mücke ⁵	Vogel- warte	K.oxytoca	16	Instituts- haltung
Hausgans ⁶	822	K.oecaenae	16	Kleinbestand
Kanarie ⁷	925	K.pneumoniae	16	Volierenvogel
Webervogel ⁷	861b	K.pneumoniae	8	Volierenvogel
Mönchsgras- mücke	Vogel- warte	K.oxytoca	8	Instituts- haltung
"	"	K.oecaenae	8	"
Wellen- sittich	738	K.pneumoniae	4	Käfigvogel
Amsel ⁹	818	K.pneumoniae	4	Wildvogel
Stockente ¹⁰	855	K.pneumoniae	4	Kleinbestand
Dompfaff ¹¹	687	K.pneumoniae	4	Wildvogel
Zeisig ¹²	VK1648	K.oxytoca	2	Volierenvogel
Kanarie	867	K.pneumoniae	2	Käfigvogel
Fischer- turkan ¹³	VK1435b	K.oxytoca	2	Vogelpark
Rotohrrara ¹⁴	VK1678	K.oxytoca	2	Vogelpark
Höckerschwan ¹⁵	905	K.pneumoniae	2	Kleinbestand

¹ Arachnechthra fusca (Viell.,1758)

² Melopsittacus undulatus (Shaw,1805)

³ Gallus gallus domesticus

⁴ Psittacara chloropera (Souance,1856)

⁵ Sylvia atricapilla (L.,1758)

⁶ Anser anseris

⁷ Serinus canaria (L.,1758)

⁸ Fondia rubra (Gmel.,1789)

⁹ Merula merula (L.,1758)

¹⁰ Anas platyrhynchos (L.,1758)

¹¹ Pyrrhula pyrrhula (L.,1758)

¹² Spinus psaltria (Say,1823)

¹³ Ramphastos sulfuratus (Less.,1830)

¹⁴ Ara rubrogenys (Lafr.1848)

¹⁵ Cygnus olor (Gmel.,1789)

Tab.19: Minimumhemmkonzentration (MHK) von *Bordetella avium*-Stämmen gegen Doxycyclin

Vogelart	Tgb.No.	MHK (µg/ml)	Bemerkungen
Haustaube ¹	516	4	Wildvogel
Hausgans ²	499	4	Kleinbestand
Graupapagei ³	VK481b	4	Volierenvogel
Nachtaugen- kakadu ⁴	VK481d	2	Volierenvogel
"	VK481c	2	Volierenvogel
Stockente ⁵	42	0.062	Kleinbestand

¹ *Columba livia domestica*

² *Anser anseris*

³ *Psittacus erithacus* (L.,1758)

⁴ *Cacatua sanguinea* (Gould.,1843)

⁵ *Anas platyrhynchos* (L.,1758)

Tab.20: Minimumhemmkonzentration (MHK) von Pasteurella-Stämmen gegen Doxycyclin

Vogelart	Tgb.No.	Bakt.-spp.	MHK µg/ml	Bemerkungen
Amsel ¹	1359	P.multocida	1	Wildvogel
Sperling ²	1282	P.multocida	1	Wildvogel
Taube ³	888	P.ureae	0.5	Reisetaube
Amsel	776	P.multocida	0.5	Wildvogel
Star ⁴	673	P.multocida	0.5	Wildvogel
Amsel	717	P.multocida	0.5	Wildvogel
Huhn ⁵	Grub	P.multocida	0.5	Wirtschafts- geflügel
Huhn	Grub	P.multocida	0.5	"
Schleier- eule ⁶	358	P.multocida	0.5	Wildvogel
Wacholder- drossel ⁷	1227	P.multocida	0.5	Wildvogel
"	745	P.multocida	0.25	Wildvogel
Ente	1079	P.multocida	0.25	Kleinbestand
Stockente ⁸	1059	P.multocida	0.25	Wildvogel
Wellen- sittich ⁹	536	P.multocida	0.25	Käfigvogel
Kanarie ¹⁰	674	P.multocida	0.25	Käfigvogel
Amsel	1251	P.multocida	0.25	Wildvogel
Huhn	787	P.multocida	0.25	Wirtschafts- geflügel
Amsel	818	P.multocida	0.25	Wildvogel
Ente	505	P.ureae	0.25	Wildvogel
Wellen- sittich	2358	P.multocida	0.125	Käfigvogel

¹ Merula merula (L.,1758)

² Passer domesticus (L.,1758)

³ Columba livia domestica

⁴ Sturnus vulgaris (L.,1758)

⁵ Gallus gallus domesticus

⁶ Tyto alba (Scop.,1769)

⁷ Merula migratoria (L.,1766)

⁸ Anas platyrhynchos (L.,1758)

⁹ Melopsittacus undulatus (Shaw 1805)

¹⁰ Serinus canaria (L.,1758)

Tab.21: Minimumhemmkonzentration von Actinobacillus- und Actinobacillus-like-Stämmen gegen Doxycyclin

Vogelart	Tgb.No.	MHK µg/ml	Bemerkungen
Haustaube ¹	804	16	Kleinbestand
Haushuhn ²	1260	8	Kleinbestand
Haushuhn	1309	8	Kleinbestand
Haushuhn	705	8	Kleinbestand
Blaustirnamazone ³	VK 871	8	Käfigvogel
Haustaube	1228/a	8	Kleinbestand
Wellensittich ⁴	524	8	Volierenvogel
Haushuhn	5280/85	4	Kleinbestand
Haushuhn	1389	4	Kleinbestand
Agapornis personata VK	1434	2	Käfigvogel
Wellensittich	690	2	Volierenvogel
Haushuhn	1401	2	Kleinbestand
Haushuhn	1229	1	Kleinbestand
Haushuhn	1246	1	Kleinbestand
Wellensittich	1334	1	Käfigvogel
Haustaube	449	1	Kleinbestand
Wellensittich	775	1	Käfigvogel
Schwalbenküken ⁵	999	1	Wildvogel
Wellensittich	1398	0.5	Käfigvogel
Wellensittich	1270	0.5	Käfigvogel

¹ Columba livia domestica

² Gallus gallus domesticus

³ Amazona aestiva (L.,1758)

⁴ Melospittacus undulatus (Shaw,1805)

⁵ Delichon urbica

Tab.22: Minimumhemmkonzentration (MHK) von Mollicutes-Stämmen gegen Doxycyclin

Vogelart	Tgb.No.	Spezies	MHK(μ g/ml)	Bemerkungen
a. Arginin abbauend				
Hausgans ¹	365	M.gallinarum	128	Kleinbestand
Haustaube ²	VK 1939	M.columbonasale	128	Rassetaube
Haustaube	918	M.columbonasale	128	Rassetaube
Haustaube	160	M.columbonasale	128	Rassetaube
Haustaube	VK 431	M.columbonasale	128	Rassetaube
Haustaube	VK 357	M.columbonasale	128	Wildvogel
Haustaube	VK 4523	M.columbonasale	64	Reisetaube
Haustaube	VK 431	M.columbonasale	64	Stadttaube
Haustaube	2252/b	A. Serotyp IV nach Gerlach	16	Rassetaube
Haustaube	1019/1	M.columbonasale	8	Rassetaube
Haustaube	1019/2	M.columbonasale	8	Rassetaube
Haustaube	VK 2889	M.columbonasale	1	Rassetaube
b. Glukose abbauend				
Haushuhn ³	VK 759/b	nicht diff.	16	Kleinbestand
Haushuhn	VK 562	nicht diff.	8	Kleinbestand
Haushuhn	VK 562	M.pullorum	8	Kleinbestand
Haustaube	VK 437	M. Biotyp V nach Gerlach	8	Rassetaube
Haustaube	VK 922	M. Biotyp V nach Gerlach	4	Rassetaube
Haushuhn	653	A.laidlawii	4	Kleinbestand
Hausgans	365	nicht. diff.	4	Kleinbestand
Stockente ⁴	1468	M. nach Fawzia	4	Kleinbestand
Haustaube	2252/b	M. Biotyp V nach Gerlach	4	Rassetaube
Haushuhn	134	nicht diff.	4	Kleinbestand
Haushuhn	VK 562	nicht diff.	2	Kleinbestand
Haushuhn	VK 653	nicht diff.	1	Kleinbestand
Hausgans	VK 1770	A. nicht diff.	1	Kleinbestand
Stockente	1468	M. nach Fawzia	1	Kleinbestand

¹ Anser anseris

² Columba livia domestica

³ Gallus gallus domesticus

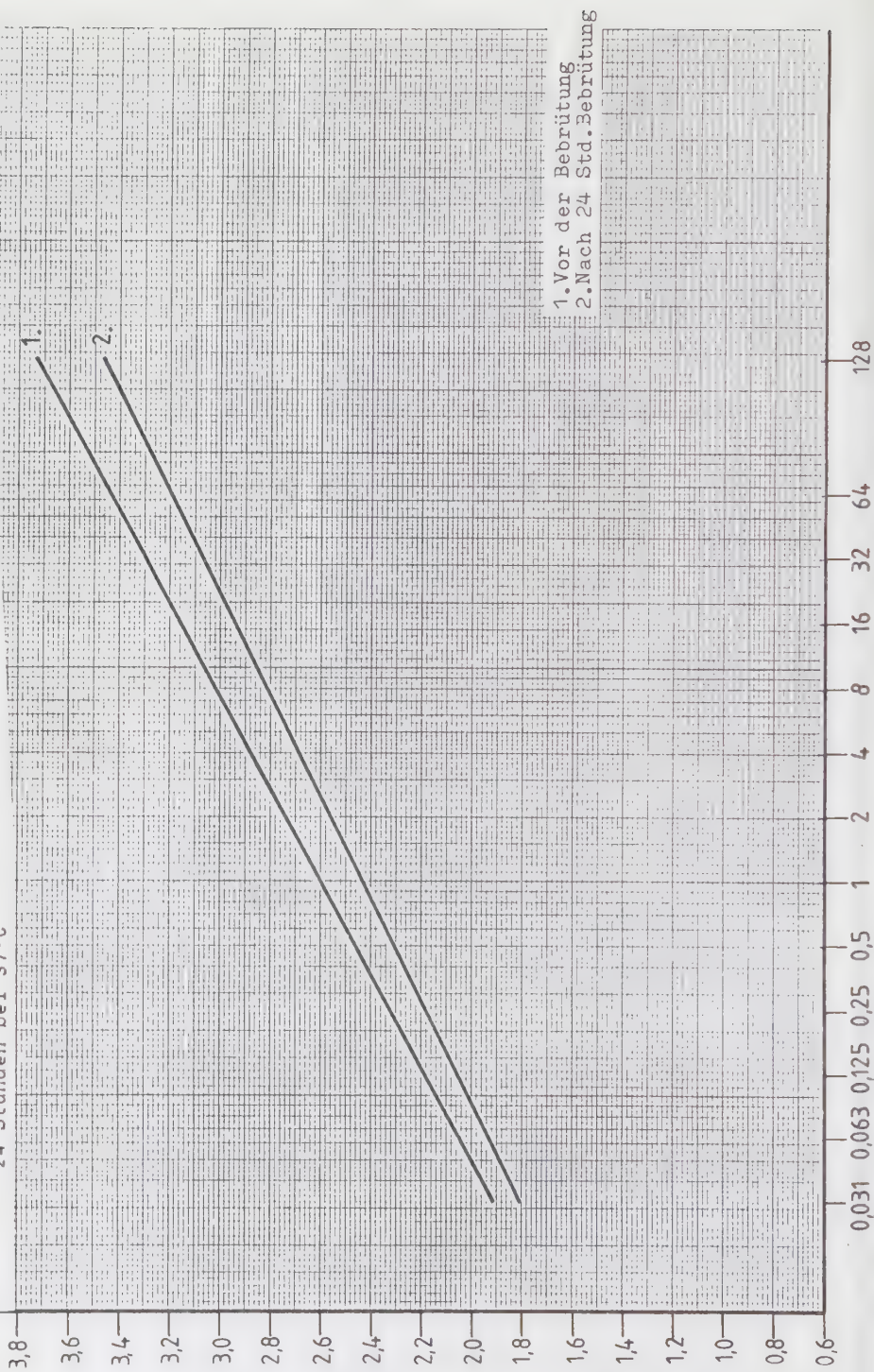
⁴ Anas platyrhynchos L., 1758

4.4. Aktivitätsabfall von Doxy (siehe Graphik 1)

Der Aktivitätsabfall von Doxy nach 24-stündiger Bebrütung bei 37°C beträgt vom statistischen Mittelwert aus errechnet bei einer Konzentration von:

128	µg/ml	7.33 %
64	µg/ml	6.95 %
32	µg/ml	6.66 %
16	µg/ml	6.47 %
8	µg/ml	6.36 %
4	µg/ml	6.30 %
2	µg/ml	6.26 %
1	µg/ml	6.25 %
0.5	µg/ml	6.24 %
0.25	µg/ml	6.23 %
0.125	µg/ml	6.23 %
0.063	µg/ml	6.23 %
0.031	µg/ml	6.22 %

Graphik 1: Aktivitätsabfall von Doxy nach Bebrütung über 24 Stunden bei 37°C



Diskussion

Das Reihenverdünnungsverfahren in der durchgeführten Form (Ericsson, 1964) hat sich als brauchbar für die MHK-Bestimmung von Doxy erwiesen. Der Aktivitätsabfall über 24 Stunden betrug im Mittelwert 6.44 % und zeigte eine geringe Abhängigkeit von der Ausgangskonzentration. Dieser zu erwartende Aktivitätsabfall dürfte keinen wesentlichen Einfluß auf die tatsächlich abgelesenen MHK-Werte der untersuchten Bakterien haben. Mit Ausnahme der Actinobacillus- und Actinobacillus-like-Stämme zeigte sich eine weitgehende Übereinstimmung in der Beurteilung der Resistenzlage mit den Ergebnissen des Blättchendiffusionstestes. Über die Ursache der bei den Actinobacillus- und Actinobacillus-like-Stämmen beobachteten übergroßen Hemmhöfe kann derzeit keine Aussage gemacht werden. Das Reihenverdünnungsverfahren für Doxy zur Überprüfung von Mollicutes-Keimen ist mit einer Reihe von Unsicherheiten belastet:

- Der zum Wachstum der Stämme notwendige 10%-ige Pferdeserum-Anteil könnte einen Teil der Doxy-Menge irreversibel gebunden haben.
- Eine Kontrolle war wegen der Penicillin-/Thallium-Empfindlichkeit des verwendeten Bacillusstammes nicht möglich. Da in der Literatur (Raiber, 1976) PPLO-Broth mit den genannten Zusätzen als Medium für die MHK-Bestimmung bei Mollicutes im Reihenverdünnungsverfahren genannt wird, wurde in vorliegender Arbeit ebenfalls nicht auf den Zusatz von Penicillin und Thallium verzichtet.
- Nach den Angaben von Pfizer (1967) ist bei Doxy nach 8-tägiger Lagerung bei 37°C ein Aktivitätsabfall von 40 - 50 % zu verzeichnen. Da die Mollicutes-Kulturen über 10 Tage bebrütet wurden, dürfte der Aktivitätsabfall mit mindestens 50 %, d.h. einer 2-er-Logarithmus-Stufe anzusetzen sein.
- Nach Raiber (1976) reagieren die verschiedenen Mollicutes-Stämme unterschiedlich auf Oxytetracyclin. Es muß angenommen werden, daß die Verhältnisse bei Doxy nicht grundsätzlich anders sind. Bei Verwendung von synchronisierten Kulturen (wie in der vorliegenden Arbeit) kommt es bei einigen Stämmen zu einer lag-phase-Verkürzung, aber nur zu einer unwesentlichen Keimvermehrung; bei anderen Stämmen zu einer Verlängerung der lag-phase mit nachfolgendem Titeranstieg. Beim zweiten Reaktionstyp kann es schließlich zu einem Titerabfall kommen. Die Reaktion auf OTC ist unterschiedlich bei verschiedenen Mollicutes-Species sowie innerhalb einer Art. Eine Analyse der Reaktionstypen wurde für die untersuchten Stämme nicht durchgeführt.
- Die Tetracycline gelten als bakteriostatische Anti-

biotika, deren Wirkung als reversibel angesehen wird (Franklin & Snow, 1973).

- Nach Friedrich (1970) wird besonders bei den Tetracyclinen beobachtet, daß Stoffwechseleigenschaften von Mollicutes-Keimen (z.B. Glucoseabbau) gehemmt wird, ohne daß das Wachstum vollständig eingestellt wird. Diese Schwierigkeit kann durch Plattenkulturen aller Röhrchen ohne Indikatorumschlag überwunden werden.

Die anderen beschriebenen Unsicherheiten bei der Beurteilung lassen sich nur schwer exakt erfassen. Prinzipiell kann man zwar die abgelesenen MHK um eine 2-er-Logarithmus-Stufe herabsetzen, da dies dem tatsächlichen Aktivitätsabfall entspricht. Die Frage ist aber zu welchem Zeitpunkt die Wachstumshemmung eingetreten ist (lag-phase-Verkürzung oder -Verlängerung) und in wie weit eine Reversibilität dieser Hemmung möglich ist. Vergleiche von experimentellen Therapieversuchen und MHK-Werten bei Hühnerküken (*Mycoplasma gallisepticum*) und Tauben (*Mycoplasma columbonasale*) haben jedoch gezeigt, daß die nicht korrigierten MHK-Werte den in vivo-Verhältnissen weitgehend entsprechen (Gerlach, 1968).

Die untersuchten Bakterienstämme entsprachen mit Ausnahme der *Actinobacillus*- und *Actinobacillus-like*-Species den Standardbeschreibungen. Die festgestellten Abweichungen von der Norm sind beschrieben und als biologische Variation innerhalb einer Population zu beurteilen.

Die taxonomische Einordnung von *Actinobacillus*- und *Actinobacillus-like* ist trotz der Arbeit von Piechulla et al., (1985) noch nicht abgeschlossen. Dies gilt besonders für aviäre Isolate. Die von Piechulla und Mitarbeitern angeregte Neubeschreibung von Genera und Species innerhalb der Familie der Pasteurellaceae liegt noch nicht vor. Eine weitergehende Differenzierung dieser Keimgruppe wurde daher nicht vorgenommen.

Die *Salmonella*-Isolate stammten alle aus der Haustaube und gehörten der Subspecies *Salmonella typhimurium* var. *copenhagen* an. Diese Subspecies kommt nach Wuthe (1978) überwiegend bei Haustauben und freilebenden Singvögeln vor. Allerdings handelt es sich nach demselben Autor um getrennte Populationen, die sich biochemisch unterscheiden. Alle Stämme haben Maltose nicht verwertet. Damit sind sie nach Wuthe (1971) als taubenspezifisch anzusehen.

Die Stammhaltung erfolgte auf verschlossenen Schrägagar-Röhrchen im Kühlschrank, d.h. ohne wesentliche Passagen. Ausgenommen waren hiervon die Pasteurellaceae und die Mollicutes. Bei häufigen Passagen der Pasteurella-

ceae ist ein Verlust von Resistenzeigenschaften denkbar (Lebek, 1963). Allerdings wurden die *Pasteurella*-Stämme sofort nach der Isolation (erste, spätestens zweite Passage) im Diffusionstest überprüft. Sie waren zu dieser Zeit bereits weitgehend empfindlich gegenüber Doxy, so daß ein wesentlicher Verlust von Resistenzeigenschaften nicht anzunehmen ist. Für die *Actinobacillus*- und *Actinobacillus-like*-Stämme kann in dieser Hinsicht keine Aussage gemacht werden. Für die *Mollicutes*-Keime, insbesondere für die Arginin-abbauenden werden trotz hoher Passagezahlen Doxycyclin-Resistenzen festgestellt, so daß eine Zunahme der Empfindlichkeit wenig wahrscheinlich ist.

Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung zeigen, daß bei *Enterobacteriaceae* mit Ausnahme der *Salmonellen* erhebliche Resistenzen vorliegen. Die untersuchten *E.coli*-Isolate stammten überwiegend aus Wirtschaftsgeflügel und waren mit Ausnahme der *Moschusenten*-Stämme zu 35 - 55 % resistent. Hier dürfte sich ein therapieabhängiges Reservoir resistenter Stämme widerspiegeln. Ein ähnlicher Mechanismus ist zu diskutieren bei der 50%-igen Unempfindlichkeit der untersuchten *Klebsiella*-Isolate, die teilweise aus Wirtschaftsgeflügel, aber auch aus Wild- und Ziervögeln stammten (Zoohaltung, Institutshaltung etc.).

Die *Citrobacter*-Stämme, die mit 20 % nur eine vergleichsweise geringe Resistenzlage aufwiesen, stammten aus unterschiedlichen Quellen. Über die Wahrscheinlichkeit eines früheren Antibiotika-Kontaktes kann keine Aussage gemacht werden.

Die *Salmonella*-Isolate, die ausschließlich der Subspecies *Salmonella typhimurium* var. *copenhagen* angehörten und aufgrund der fehlenden Maltosespaltung als taubenspezifisch eingeordnet wurden, erwiesen sich alle als mäßig empfindlich gegenüber Doxy. Inwieweit hier die bei dem Genus *Salmonella* nachgewiesenen chromosomal determinierten Nucleasen ausschlaggebend sind, kann nicht entgültig beurteilt werden. Da die meisten Haus- tauben jedoch vermutlich nach Erkenntnissen aus der Praxis mit Tetracyclinen in Berührung gekommen sind, muß dieser Mechanismus als möglich angesehen werden.

Über die *Bordetella avium*-Stämme kann wegen der geringen Zahl keine gesicherte Aussage gemacht werden.

Es besteht ein starker Unterschied in der Resistenzlage der *Pasteurella*- und *Actinobacillus*- bzw. *Actinobacillus-like*-Stämme. Während die *Pasteurella*-Isolate zu 90 % Doxycyclin-empfindlich und zu 10 % -mäßig empfindlich waren, sind in der Gruppe der *Actinobacillus* und *Actinobacillus-like* rund 30 % resistente Keime vorhanden. Die *Pasteurella*-Keime stammten überwiegend aus

der Wildpopulation, in der Antibiotika-Kontakt eine untergeordnete Rolle spielen dürfte. Anders in der Gruppe der Actinobacillus- bzw. Actinobacillus-like, die aus Haugeflügel (Hühner, Tauben) und aus im Wohnbereich gehaltenen Vögeln stammten, bei denen Vorbehandlung mit Antibiotika zumindest teilweise nicht auszuschließen ist.

Aus den Ergebnissen läßt sich schließen, daß mit Ausnahme von Salmonella und Pasteurella die Doxycyclin-Resistenz so hoch ist, daß eine Bestimmung der Resistenzlage vor der Einleitung von Therapiemaßnahmen erforderlich erscheint. Dies gilt nicht nur für Wirtschaftsgeflügel sondern auch für Bestände von Ziervögeln.

Bei den untersuchten Mollicutes-Stämmen wird zwischen Arginin-abbauenden und Glucose-abbauenden Stämmen unterschieden. Bei den Arginin-abbauenden Isolaten liegt die MHK bei 91.6 % der Stämme über 8 µg/ml. Eine Behandlung von Infektionen mit solchen Stämmen durch Doxy erscheint aussichtslos, auch unter Berücksichtigung der Unsicherheiten bei der Auswertung des Testes.

Bei den Glucose-abbauenden Mollicutes liegen die MHK-Werte zwischen 0.5 und 8 µg/ml. Eine theoretische Erfolgchance für die Behandlung eines Teiles dieser Stämme wäre demnach noch gegeben. Von praktischer Bedeutung wäre es zu überprüfen, ob dieser große Empfindlichkeitsunterschied zwischen Arginin- und Glucose-abbauenden Stämmen generell vorhanden ist. Die untersuchten 26 Isolate sind dazu nicht aussagefähig genug. Es ist im Labor ohne wesentlichen Aufwand möglich, frische Isolate innerhalb 10 Tagen auf ihre Reaktionsweise zu überprüfen. Prinzipiell sollte aber aufgrund der vorliegenden MHK-Werte und der wenigen Literaturangaben von Reihenverdünnungstesten mit Mollicutes eine Behandlung von Infektionen mit dieser Keimart bei Vögeln mit Doxycyclin überdacht werden, zumal wirksamere Therapeutika zur Verfügung stehen.

6. Zusammenfassung

Nach biochemischer (und bei Salmonella-Isolaten auch serologischer) Differenzierung von Bakterien und Mollicutes-Stämmen wurde deren Sensibilität gegenüber Doxycyclin durch Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration (MHK) mit Hilfe eines Reihenverdünnungsverfahrens in Röhrchen untersucht. Als Medium für die zu überprüfenden Bakterienstämme wurde Difco Müller-Hinton-Broth verwendet. Die MHK-Bestimmung der Mollicutes-Stämme erfolgte in PPL0-Broth (Adler, 1956). Als Inoculum diente 0.05 ml einer Bakteriensuspension bzw. 0.1 ml einer Mollicutes-Flüssigkultur.

Im einzelnen wurden folgende Keime aus Zier- und Wildvögeln sowie Wirtschaftsgeflügel isoliert:

Escherichia coli	(115 Stämme)
Salmonella typhimurium	
var. copenhagen	(20 Stämme)
Citrobacter	(20 Stämme)
Klebsiella	(20 Stämme)
Bordetella avium	(6 Stämme)
Pasteurella	(20 Stämme)
Actinobacillus	(3 Stämme)
Actinobacillus-like	(17 Stämme)
Mollicutes	(26 Stämme)

Die Untersuchungen führten zu folgenden Ergebnissen:

Empfindlich gegenüber Doxy reagierten
(0.031 - 0.5 µg/ml)

Escherichia coli	1	Stamm
Citrobacter	2	Stämme
Bordetella avium	1	Stamm
Pasteurella	18	Stämme
Actinobacillus	1	Stamm
Actinobacillus-like	1	Stamm

Mäßig empfindlich gegenüber Doxy reagierten
(1 - 4 µg/ml)

Escherichia coli	61	Stämme
Salmonella	20	Stämme
Citrobacter	14	Stämme
Klebsiella	10	Stämme
Bordetella avium	5	Stämme
Pasteurella	2	Stämme
Actinobacillus	1	Stamm
Actinobacillus-like	11	Stämme
Mollicutes	11	Stämme

Resistent gegenüber Doxy waren
(8 - 128 µg/ml)

Escherichia coli	53	Stämme
Citrobacter	4	Stämme
Klebsiella	10	Stämme
Actinobacillus	1	Stamm
Actinobacillus-like	5	Stämme
Mollicutes	15	Stämme

Der Aktivitätsabfall von Doxy nach einer Bebrütung über
24 Stunden bei 37°C in Müller-Hinton-Broth betrug im
Durchschnitt 6.44 %.

Summary

Minimum Inhibition Concentration (MIC) of Doxycyclin for some Strains of Enterobacteriaceae, Bordetella avium, Pasteurellaceae and Mollicutes of Avian Origin

Following biochemical differentiation (with Salmonella also serotyping) of bacterial and Mollicutes strains, their sensitivity for doxycycline was determined using serial dilution in tubes. Müller-Hinton-Broth was used for the bacteria strains to be tested. The MIC for the mollicutes strains was estimated in PPLO-Broth (Adler, 1956). The bacterial inoculum was 0.05 ml of a suspension respectively 0.1 ml of mollicutes liquid culture.

The microorganisms examined originated from petbirds, wildliving birds, and poultry, and were classified as

Escherichia coli	(115 strains)
Salmonella typhimurium	
var. copenhagen	(20 strains)
Citrobacter	(20 strains)
Klebsiella	(20 strains)
Bordetella avium	(6 strains)
Pasteurella	(20 strains)
Actinobacillus	(3 strains)
Actinobacillus-like	(17 strains)
Mollicutes	(26 strains)

The following results are presented:

Sensitivity for doxycycline:
(0.031 - 0.5 µg/ml)

Escherichia coli	1 strain
Citrobacter	2 strains
Bordetella avium	1 strain
Pasteurella	18 strains
Actinobacillus	1 strain
Actinobacillus-like	1 strain

Reduced sensitivity for doxycycline:
(1 - 4 µg/ml)

Escherichia coli	61 strains
Salmonella	20 strains
Citrobacter	14 strains
Klebsiella	10 strains
Bordetella avium	5 strains
Pasteurella	2 strains
Actinobacillus	1 strain
Actinobacillus-like	11 strains
Mollicutes	11 strains

Resistance for doxycycline:

(8 - 128 µg/ml)

Escherichia coli	53 strains
Citrobacter	4 strains
Klebsiella	10 strains
Actinobacillus	1 strain
Actinobacillus-like	5 strains
Mollicutes	15 strains

The decrease of the doxycycline activity in Müller-Hinton-Broth during 24 hours of incubation at 37°C averaged 6.44 %.

La concentración mínima de inhibición de Doxiciclina para algunas cepas de Enterobacteriaceae, Bordetella avium, Pasteurellaceae y Mollicutes aisladas de aves

Resumen

Cepas de varias especies bacterianas y mollicutes diferenciadas bioquímicamente y, en caso de Salmonella, serológicamente se examinaron en atención a su sensibilidad contra Doxiciclina evaluando la concentración mínima de inhibición (MHK) por el método de dilución en tubos. Como medio para la identificación de la cepa bacteriana se emplea el medio Difco-Müller-Hinton-broth. La determinación de la concentración mínima inhibitoria de las cepas mollicutes se consigió con PPLO-broth (Adler, 1956). Como inóculo se empleó 0.05 ml de una suspensión bacteriana o en su lugar 0.1 ml de un cultivo líquido de mollicutes. Se examinaron los siguientes germen es aislados de aves ornamentales, silvestres y de producción:

Escherichia coli	115 cepas
Salmonella typhimurium	
var. copenhagen	20 cepas
Citrobacter	20 cepas
Klebsiella	20 cepas
Bordetella avium	6 cepas
Pasteurella	20 cepas
Actinobacillus	3 cepas
Actinobacillus-like	17 cepas
Mollicutes	26 cepas

Una sensibilidad contra Doxiciclina (0.031 - 0.5 µg/ml) estaba en caso de

Escherichia coli	1 cepa
Citrobacter	2 cepas
Bordetella avium	1 cepa
Pasteurella	18 cepas
Actinobacillus	1 cepa
Actinobacillus-like	1 cepa

Una sensibilidad mediocre contra Doxiciclina (1 - 4 µg/ml) poseían

Escherichia coli	61 cepas
Salmonella	20 cepas
Citrobacter	14 cepas
Klebsiella	10 cepas
Bordetella avium	5 cepas
Pasteurella	2 cepas
Actinobacillus	1 cepa
Actinobacillus-like	11 cepas
Mollicutes	11 cepas

Las siguientes cepas estaban resistentes contra Doxyciclina (8 - 128 $\mu\text{g/ml}$)

<i>Escherichia coli</i>	53 cepas
<i>Citrobacter</i>	4 cepas
<i>Klebsiella</i>	10 cepas
<i>Actinobacillus</i>	1 cepa
<i>Actinobacillus-like</i>	5 cepas
<i>Mollicutes</i>	15 cepas

La actividad inhibitoria de Doxyciclina despues de una incubación por 24 horas y 37°C en caldo según Müller-Hinton se disminuyó en un promedio de 6.44 %.

Literaturverzeichnis

- ADLER, H.E.; R.YAMAMOTO and R.A. BANKOWSKY (1954)
A preliminary report of efficiency of various mediums
for isolation of PPLO from exsudate of birds with CRD
Amer.J.Vet.Res., 15, 463-465
- ARONSON, A.L. (1980)
Pharmacotherapeutics of the newer tetracyclines
J.Amer.Vet.med.Ass. 176, 1061-1068
- BENDIG, J.; H.HAENEL; G.MÖBIUS; H.SEDLAK & H.WIEDERS-
BERG (1970)
Die Mikroökologie des Gastrointestinaltraktes beim
plötzlichen Kindstod
Zbl.Bakt.Orig., 213, 389-401
- BERGEY'S MANUAL OF SYSTEMATIC BACTERIOLOGY (1984)
Vol.1
Williams & Wilkins
Baltimore/London
- BLAUDEL, G.B. (1973)
Untersuchungen zur Feststellung pathogener Eigen-
schaften von Escherichia coli-Feldstämmen des Ge-
flügels
Vet.Diss., München
- BULLING, E.; R.STEPHAN & V.SEBEK (1973)
Die Entwicklung der Antibiotikaresistenz von Salmo-
nella-Bakterien in der Bundesrepublik Deutschland
einschl.Berlin (West)
1. Mitteilung: Ein Vergleich zwischen 1961 und 1970/71
Zbl.Bakt.Hyg., T.Abt.Orig.A, 225, 245-256
- BUTLER, M. & B.C.J.G.KNIGHT (1960)
The measurement of growth of Mycoplasma in a liquid
media
J.Gen.Microbiol., 22, 478-482
- CHANG, W.H. & G.R.CARTER (1976)
Multiple drug resistance in Pasteurella multocida and
Pasteurella haemolytica from cattle and swine
J.Amer.Vet.med.Ass., 162, 710-712
- COLSON et al. (1969)
Host controlled restriction mutants of Salmonella
typhimurium
J.Gen.Microbiol., 58, 57-64
- DETTLI, L. (1967)
Vibramycin
Symposium Vibramycin
Chemotherapy, 13, 100-102

DORRESTEIN, G.M.; M.N.BUITELAAR & J.M.WIGGELINKHUIZEN
(1981)

Pharmakokinetische Aspekte bei Volierenvögeln und
Tauben

II.Tagung der DVG-Fachgruppe Geflügel

"Krankheiten der Vögel" in München ,

Tagungsbericht pp. 25 - 36

ERICSSON, H. (1964)

Standardization of methods for conducting

microbic sensitivity tests

Preliminary report of a working group of the inter-
national collaborative study by the World Health
Organisation

Karollinska Sjukhuset

Stockholm, Sweden

FABRE, J.; J.P.KUNZ; C.VIRIEUX; J.L. LAURENCET & J.S.
PITTON (1967)

Le comportement de la doxycycline chez l'homme

Symposium sur la Vibramycine

Chemotherapy, 13, 99

FORTH, W.; D.HENSCHLER & W.RUMMEL (1983)

Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie

Bibliographisches Institut

Mannheim/Wien/München

B.I. Wissenschaftsverlag

FRANKLIN, T.J. & G.A. SNOW (1973)

Biochemie antimikrobieller Wirkstoffe

Springer-Verlag

Berlin, Heidelberg, New York

FRIEDRICH, H. (1970)

Zur Anwendung des Stoffwechselhemmtests (MI-Test) bei

Mycoplasma gallisepticum

Vet.Diss., München

FUNATSU, G. & H.G. WITTMANN (1972)

Location of amino acid replacements in protein S 12

isolated from Escherichia coli mutants resistant to

streptomycin

J.Mol.Biol., 68, 547-550

GEDEK, B. (1983)

Bakteriologie und Mykologie in:

Rolle, M. & A. Mayr

Mikrobiologie, Infektion- und Seuchenlehre

5. Auflage

Ferdinand Enke Verlag Stuttgart

GEISSLER, H. & J.KÖSTERS (1970)
Zur Diagnose der Salmonellose des Geflügels mit Hilfe
der Anreicherung bei 43°C
Zbl.Bakt.I Abt.Orig., 214, 207-215

GERLACH, H. (1967)
Zur Resistenztestung gegen Antibiotika und Sulfo-
namide
Berl.Münch.Tierärztl.Wschr., 12, 231-234

GERLACH, H. (1968)
Probleme bei der Therapie der gallisepticum-Myco-
plasmose des Geflügels
Berl.Münch.Tierärztl.Wschr., 22, 448-452

GERLACH, H. (1978)
Untersuchungen über Mollicutes bei Tauben
Vet.Habil., München

GERLACH, H. (1981)
Infection with the so called Haemophilus septicaemiae
anseris in Geese
VII. International Congress of World Veterinary
Poultry Association, Oslo Norway
Tagungsbericht p.80

GERLACH, H. (1985)
Infektionen durch Mollikutes beim Vogel in:
Gylstorff I.
Infektionen durch Mycoplasmatales
VEB Gustav Fischer Verlag, Jena

GERLACH, H. (1986a)
Biochemische Unterscheidung von bei Vögeln vorkommen-
den Spezies der Familie Pasteurellaceae
V.DVG-Tagung über Vogelkrankheiten, München
Tagungsbericht pp.238-248

GERLACH, H (1986b)
Zur Antibiotika-Resistenz verschiedener gram-negativer
Bakterien aus Klinik- und Sektionsmaterial des In-
stitutes für Geflügelkrankheiten der Ludwig-Maxi-
milians-Universität München
V.DVG-Tagung über Vogelkrankheiten, München
Tagungsbericht pp.259-269

GERLACH, H. (1986c)
Bacterial Diseases in:
Harrison, G.J. & L.R. Harrison
Clinical Avian Medicine and Surgery
W.B. Saunders Company
Philadelphia, London, Toronto, Mexico City, Rio de
Janeiro, Sydney, Hong Kong

GERLACH, H. (1987)
persönliche Mitteilung

- GLÜNDER, G. (1981)
Orientierende Versuche zur Ansiedlung von Enterobacteriaceae in der Darmflora von Körnerfressern
II.DVG-Tagung Krankheiten der Vögel, München
Tagungsbericht pp.17-20
- GOREN, E. (1979)
Antibiotic sensitivity tests on E.coli, isolated from poultry
significance of mixed strain inocula
Avian Path., 8, 13-22
- GRAHAM, D.R.; R.L.ANDERSON; F.E.ARIEL; N.J.EHRENKRANZ;
B.ROWE; H.R.BOER & R.E.DIXON (19..)
Epidemic nosocomial meningitis due to Citrobacter
diversus in Neonates
J.Inf.Dis., 144, 203-209
- GYLSTORFF, I. & H.GERLACH (1974)
Klebsiella aerogenes-Infektion bei Putenküken und
Therapieversuch mit Polymyxin B
Dtsch.Tierärztl.Wschr., 81, 297-324
- GYLSTORFF, I. (1984)
Vergleichende Untersuchungen zur Psittakosebekämpfung
auf medikamenteller Basis
Berl.Münch.Tierärztl.Wschr., 97, 91-99
- GYLSTORFF, I. (1986)
Pharmakokinetik und Pharmakotherapie bei Zier- und
Zooavögeln
Dtsch.Tierärztl.Wschr., 93, 33-37
- HALLMANN, L. & F.BURKHARDT (1974)
Klinische Mikrobiologie
Georg Thieme Verlag, Stuttgart
- HEIN, J. (1974)
Kritische Übersicht über die von den Herstellern ein-
gereichten Dossiers für die Zulassung von bestimmten
Antibiotika zum nutritiven Einsatz im Hühnerfutter
Vet.Diss., München
- HENNING, K. & H.KRAUSS (1986)
Felduntersuchung zur Frage einer Resistenzbildung
von Chlamydia psittaci gegen Tetracycline
Berl.Münch.Tierärztl.Wschr., 99, 381-382
- HINTERMEYER, H. (1974)
Untersuchungen über die Wirksamkeit von BayVa 9391
bei experimentellen E.coli-, Salmonella typhimurium-
und Pasteurella haemolytica- Infektionen beim Eintags-
küken
Vet.Diss., München

- HOFMANN, S.; H. KNOTHE & B. WIEDEMANN (1967)
Antibiotika-Resistenz bei Salmonella-Bakterien
Bundesgesundheitsbl., 10, 238-240
- JAKOBY, J. R. (1979)
Versuche zur Prophylaxe und Therapie der Psittakose
mit Doxycyclin bei Papageien und Sittichen
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr., 92, 95-98
- KELLY, B. J.; G. Y. GHAZIKHAINAU & B. MAYEDA (1986)
Clinical outbreaks of Bordetella avium infection in two
turkey breeder flocks
35. Proc. West. Poultry Dis. Conf. pp. 91-93
- KERSTERS, K.; K.-H. HINZ; A. HERTLE; P. SEGERS; A. LIEVENS;
O. SIEGMANN & J. DE LEY (1984)
Bordetella avium sp. nov., isolated from the respira-
tory tract of turkeys and other birds
Int. J. Syst. Bacteriol., 34, 56-70
- KIRCHHOFF, H.; E. DEEGEN; R. ZELLER & W. FLOER (1972)
Nachweis von Mycoplasmen in Luftsack und Pharynx von
Pferden mit akuten Erkrankungen der Respirationsorgane
Dtsch. Tierärztl. Wschr., 19, 465-468
- KNIGHT, H. D. & S. HEITALA (1978)
Antimicrobial susceptibility pattern in horses
Proc. 2nd Equine Pharmacology Symp.
Am. Ass. Equine Pract., 63-88
- LEBEK, G. (1963)
Der spontane Verlust episomal übertragener Mehrfach-
resistenz gegen Antibiotika bei Populationen gram-
negativer Darmkeime in Kulturen mit und ohne Anti-
biotikum
Z. Hyg. Inf. Kr., 149, 255-259
- LEBEK, G. (1968)
Die infektiöse bakterielle Antibiotika-Resistenz
Verlag Hans Huber Bern, Stuttgart
- LEBEK, G. (1976)
Antibiotika-Resistenz bei Salmonellen
Bundesgesundheitsblatt, 19, 41-45
- LEVY, L. (1974)
zitiert bei Wiedemann, B. (1974)
Die biologische Aktivität von Resistenz-Plasmiden
Immunität und Infektion, 2, 223-230
- LÜTHGEN, W. & H. LUCAS (1971)
Untersuchungen zum Nachweis von Salmonellen in Tauben-
kotproben bei Anreicherungstemperaturen von 37°C und
43°C unter Verwendung verschiedener Anreicherungs-
medien
Dtsch. Tierärztl. Wschr., 78, 173-200

- LÜTHGEN, W. (1979)
Möglichkeiten der Psittakosetherapie und -prophylaxe
unter Berücksichtigung neuerer Versuchsergebnisse
XXI Intern.Symp.Erkrank.Zootiere, Muhlhouse
Verhandlungsbericht p.215-219
- Lüthgen, W.(1983)
Einsatzmöglichkeiten von Doxycyclin in der Vogel-
praxis
Prakt.Tierarzt, 1, 244-249
- McCAPES, R.H. etc. (1981)
Symposium on turkey, coryza and infections bursal
disease in turkeys
30.Proc.West.Poult.Dis.Conf. pp.30-31
- MEAD, G.C. & B.W.ADAMS (1975)
Some observations on the caecal microflora of the
chick during the first two weeks of life
Br.Poult.Sci. 16, 169-176
- MEYNELL, G.G. & E.MEYNELL (1970)
Theory and practice in experimental bacteriology
2nd Edition Cambridge University Press
- NAQI, S.A. & S.E.GLASS (1982)
Impact of antibiotic usage on the development of
resistent strains of bacteria
31.Proc.West.Poult.Dis.Conf., p.100
- NEWNHAM, A.G. & H.P.CHU (1965)
An in vitro comparison of the effect of some anti-
bacterial, antifungal and antiprotozoal agents on
various strains of Mycoplasma (pleuropneumonia-like
organisms:PPL0)
J.Hyg.,Camp, 63
- NICOLET, J.(1985)
Kompendium der veterinärmedizinischen Bakteriologie
Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg
- NORMENAUSSCHUSS MEDIZIN (1979)
DIN-Blatt 58940 Teil 1 des
Deutschen Instituts für Normung e.V.
- PENSEYRES, J.H. (1980)
Empfindlichkeit und Resistenz verschiedener bakterieller
Erregerspezies tierischer Herkunft gegenüber ver-
schiedenen antimikrobiellen Substanzen
Vet.Diss.,Bern
- PFIZER, ANALYTISCHES LABOR PHARMAKOLOGIE (1967)
Untersuchung des Aktivitätsabfalls von Doxycyclin
in Nährmedien nach 8-tägiger Lagerung bei 37°C
Firmeninformation

PFIZER GMBH, KARLSRUHE

Firmeninformation

Vibramycin, das neue Breitspektrum-Antibiotikum aus der Pfizer-Forschung

PIECHULLA, K.; M.BISGAARD; H.GERLACH & W.MANNHEIM
(1985)

Taxonomy of some recently described avian Pasteurella/
Actinobacillus-like organisms as indicated by Des-
oxyribonucleic acid relatedness

Avian Path., 14, 281-311

PIETZSCH, O. (1980)

Zusammenstellung der in Deutschland zwischen 1970 -
1979 aus Wirtschaftsgeflügel, Wild- und Ziervögeln
isolierten Salmonellen-Spezies

Europ.Geflügelkonferenz der WPSA,Hamburg, 1, 168-171

POHL, S. (1979)

Reklassifizierung der Gattungen Actinobacillus Brumpt
1910, Haemophilus Winslow et al. 1917 und Pasteurella
Trevisan 1887 anhand phänotypischer und molekularer
Daten, insbesondere der DNS-Verwandtschaften bei
DNS:DNS-Hybridisierung in vitro und Vorschlag einer
neuen Familie Pasteurellaceae

rer.nat.Diss.,Marburg,FRG, p.128

PULVERER, G. (1969)

Doxycyclin- ein Breitbandantibiotikum der Tetracyclin-
reihe

Med.Klin., 64, 1033

RAIBER, K. (1976)

Ein Beitrag zur in-vitro Resistenztestung aviärer
Mycoplasmen

Vet.Diss.,München

RIEDEL, B. (1987)

Vorkommen von Campylobacter von im Wohnbereich des
Menschen gehaltenen Vögeln

Vet.Diss.,München

SCHACH VON WITTENAU, M.; J.J.BEEREBOOM; R.K.BLACKWOOD
& C.R.STEPHENS

Doxycyclin

J.Amer.chem.Soc.,84, 2645

SETTNES, O.P. (1968)

The in vitro sensitivity of avian Salmonella-strains
to 6 drugs

I. Investigation on 1024 strains isolated 1945-1958

Nord.Vet.Med., 20, 458-470

SIEGMANN, O. (1983)

Kompodium der Geflügelkrankheiten

Verlag M.& H. Schaper, Hannover

SMITH, P.F. (1969)

Modes of reproduction

In: L.Hayflick: The Mycoplasmatales and the L-phase of bacteria

North Holland Publishing Company

SPECHT, H. (1986)

Minimale Hemmkonzentration von Amoxicillin, Oxacillin, Neomycin, Kanamycin, Spectinomycin, Tylosin, Spiramycin, Lincomycin und Oxytetracyclin für *Pasteurella haemolytica*, *P.multocida* und *Corynebacterium pyogenes* boviner Herkunft

Vet.Diss., München

STAATLICHES VETERINÄRUNTERSUCHUNGSAMT, FRANKFURT (1979)

Arbeitsanleitung Papierblättchentest nach Broquist und Kohler zur Bestimmung von Chlortetracyclin bzw. Doxycyclin

TEICHMANN, B. & H.GERLACH (1976)

Blutspiegel beim Nymphensittich (*Nymphicus hollandicus*) nach parenteraler Verabreichung von Minocyclin und Doxycyclin

Prakt.Tierarzt, 57, 87-88

WACHENDÖRFER, G. (1969)

Zum gegenwärtigen Stand der Psittakose bei Sittichen und Papageien sowie Vorschläge für die künftige Seuchenbekämpfung

Dtsch.Tierärztl.Wschr., 76, 105-111; 153-157

WALTER, A.M. & L.HEILMEYER (1975)

Antibiotikafibel

Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart

WENDLER, R. (1984)

Ein Beitrag zur Zusammensetzung der aeroben Bakterienflora im Kot gesunder körnerfressender Ziervögel

Vet.Diss., Berlin

WILLINGER, H. & A.GEORGOPOULOS (1971)

Zur übertragbaren bakteriellen Antibiotikaresistenz
Wiener Tierärztl.Wschr., 87, 295-298

WUTHE, H.H. (1971)

Untersuchungen über Typen der *Salmonella*-typhimurium bei der Haustaube in Schleswig-Holstein und ihre mögliche epizootologische Bedeutung

Berl.Münch.Tierärztl.Wschr., 84, 290-292

WUTHE, H.H., (1978)

Mikrobiologische Merkmale bei Salmonella typhimurium
und ihre Verwendbarkeit in der praktischen Epidemiologie
Med.Habil.

WUTHE, H.H. & S.WUTHE (1980)

Taubenspezifische Stämme von Salmonella typhimurium
und ihr Vorkommen beim Menschen, bei Tieren und im
Abwasser
Weltkongreß Lebensmittelinfektion und -intoxikation
West Berlin
Proceedings pp.359-362

YAMAMOTO, R. & H.E. ADLER (1956)

The effect of certain antibiotics and chemical agents
on pleuropneumonia-like organisms of avian origin
Amer.J.vet.Res., 17, 538-542

ZÄHNER, H. (1965)

Biologie der Antibiotika
Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York

Herrn Prof.Dr.J.Kösters danke ich ganz herzlich für die Überlassung des Themas und die Arbeitsmöglichkeiten in seinem Institut.

Mein besonderer Dank gilt Frau Prof.Dr.H.Gerlach für ihre große Hilfsbereitschaft bei der Durchführung und Auswertung der Versuche und den jederzeit gewährten Rat sowie für die Bereitstellung eines Schreibcomputers zur Abfassung des redaktionellen Teils der Arbeit.

Herrn Wolfgang Graef danke ich vielmals für den Entwurf von Formblättern zur Katalogisierung der Versuchsergebnisse sowie für die hilfreiche Unterstützung bei der statistischen Auswertung.

Der Firma TAD danke ich hiermit für die finanzielle Unterstützung während der Anfertigung dieser Arbeit.

Herrn Dr. Kabisch vom Tiergesundheitsdienst Bayern in Grub möchte ich hiermit für die Überlassung einiger E.coli-Isolate aus Wirtschaftsgeflügel danken.

Nicht zuletzt bedanke ich mich herzlich bei allen Institutsangehörigen für die gute Zusammenarbeit.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Doris Quinten-Graef, geb. 1.10.1953 in Illingen-Saar

Eltern

Lothar Quinten, Richter am OLG und Gerda geb. Hüpchen

Ausbildung und berufliche Tätigkeit

1960 - 1964	Grundschule Saarbrücken
1964 - 1969	Mädchenrealgymnasium Saarbrücken
1969 - 1972	Lehre bei Notar E.Längler und Notar H.Schoenes in Saarbrücken Abschluß: Notargehilfenprüfung
1972 - 1974	Berufsaufbauschule Saarbrücken Abschluß: Fachschulreife
1974 - 1977	Saarland-Kolleg Saarbrücken Abschluß: Abitur
1977 - 1978	Arbeitsverhältnis als Diktatkorres- pondentin bei der Firma Junghans- Wolle in Aachen
1978 - 1986	Studium an der Ludwig-Maximilians- Universität München im Fach Tier- medizin Abschluß: Staatsexamen
29.Juli 1986	Approbation
22. April 1987	Verehelichung mit Wolfgang Graef

Die Vorliegende Arbeit ist zwischen April 1986 und April 1987 entstanden.

